N° D'ORDRE :
185

THÈSES

présentées
A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE
pour obtenir
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES
par

JEAN-CLAUDE GARRIGUES

Docteur en Médecine
Licencié ès Sciences
Assistant des Hôpitaux
Chef de travaux à la Faculté de Médecine

PREMIÈRE THÈSE :

Les possibilités d'obtention des paramètres cinétiques d'une réaction à l'aide du Microcalorimètre E. CALVET. Application à l'étude des modalités d'oxydation chromique de certains monohydroxysteroides

DEUXIÈME THÈSE :

Activité interfaciale des Hormones steroides Méthodes de détermination de l'aire critique ; ses corrélations éventuelles avec la conformation et les propriétés pharmacodynamiques des steroides

Soutenues le 1er Mars 1967
devant la Commission d'Examen composée de :

M. M. LAFFITTE *Président*
MM. H. BODOT, J. SAUREL *Examinateurs*

IMPRIMERIE GÉNÉRALE DE PROVENCE - MARSEILLE

Première Thèse :

Les possibilités d'obtention des paramètres cinétiques d'une réaction à l'aide du Microcalorimètre E. CALVET
Application à l'étude des modalités d'oxydation chromique de certains monohydroxysteroides

Deuxième Thèse :

Activité interfaciale des Hormones steroides
Méthodes de détermination de l'aire critique ; ses corrélations éventuelles avec la conformation et les propriétés pharmacodynamiques des steroides

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545823_0049

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

par

JEAN-CLAUDE GARRIGUES

Docteur en Médecine
Licencié ès Sciences
Assistant des Hôpitaux
Chef de travaux à la Faculté de Médecine

PREMIÈRE THÈSE :

Les possibilités d'obtention des paramètres cinétiques d'une réaction à l'aide du Microcalorimètre E. CALVET. Application à l'étude des modalités d'oxydation chromique de certains monohydroxysteroides

DEUXIÈME THÈSE :

Activité interfaciale des Hormones steroides Méthodes de détermination de l'aire critique ; ses corrélations éventuelles avec la conformation et les propriétés pharmacodynamiques des steroides

Soutenue le 1er Mars 1967

devant la Commission d'Examen composée de :

M. M. LAFFITTE *Président*

MM. H. BODOT
J. SAUREL *Examinateurs*

IMPRIMERIE GÉNÉRALE DE PROVENCE - MARSEILLE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE
FACULTÉ DES SCIENCES DE MARSEILLE

Doyens honoraires : MM. MARCHAND, TRAYNARD, CORROY, CHOUX.

Professeurs honoraires : MM. J. MARCHAND, E. TRAYNARD, C. PETIT, R. THIRY, J. BOSLER, A. TIAN, L. MARGAILLAN, P. BENOIT, H. CABANNES, P. CHOUX, G. LIANDRAT, R. CERIGHELLI, C. CORROY, L. ROYER, P. VINCENSINI.

Doyen : M. P. ROUARD.

Assesseurs : MM. A. GUILLEMONAT, J.-M. PERES.

Secrétaire principal honoraire : M. H. LANFRANCHI.

Conseiller, chef des services administratifs : M. C. MOYNAULT.

PROFESSEURS

MM.	J. VALENSI	*Mécanique expérimentale des fluides*
	P. ROUARD	*Physique générale*
	H. PRAT	*Botanique*
	P. DESNUELLE	*Chimie biologique*
	M. ABELOOS	*Biologie générale*
	R. MERIGOUX	*Physique industrielle*
	C. FEHRENBACH	*Astronomie*
	A. FAVRE	*Mécanique de l'atmosphère et météorologie*
	A. GUILLEMONAT	*Chimie industrielle*
	J.-M. PERES	*Océanographie biologique*
	G. CARPENI	*Chimie*
	C. JAUSSERAN	*Physique expérimentale*
	R. MOLINIER	*Biologie végétale*
	Y. DOUCET	*Physique*
	J.-M. SOURIAU	*Méthodes mathématiques de la physique*
	P. COTTON	*Electronique*
	J. METZGER	*Chimie*
	J. TIMON-DAVID	*Zoologie*
	L. FOURES	*Mathématiques*
	D. MALE	*Physique*
	G. BODIOU	*Mathématiques appliquées*
	M. NAUDET	*Chimie des corps gras*
	J. PAILLARD	*Psycho-physiologie*
	L. SAVIDAN	*Chimie systématique*
	D. KASTLER	*Physique théorique*
	P. BOUSQUET	*Physique*
	P. PESTEIL	*Physique*
	P. CASAL	*Mécanique rationnelle et appliquée*
	G. GOUVERNET	*Géologie appliquée*
	A. VISCONTI	*Physique théorique*
	A. BLANCHARD	*Mathématiques générales*
	M. DUSSARDIER	*Physiologie animale*
	M. PERROT	*Physique*
	P. QUEZEL	*Botanique*
	E. CRAUSSE	*Physique* (Avignon)
	A. JULG	*Chimie théorique*
Mme	S. TAXY	*Géologie historique*
M.	R. MONIER	*Chimie biologique*
Mme	M.-L. FURNESTIN	*Biologie animale*
MM.	M. BERTRAND	*Chimie*
	J. TROMPETTE	*Physique*
	A. ARAGNOL	*Mathématiques*
	M. LAFFITTE	*Chimie*
	R. FRAISSE	*Mathématiques*
Mme	C. BLANCHARD	*Mathématiques*

MM. R. NEGRE ..... *Biologie végétale*
A. PENELOUX ..... *Chimie*
R. BUVAT ..... *Cytologie et biologie végétale*
R. COULON ..... *Physique*
H. MOREL ..... *Analyse numérique*
F. TESSIER ..... *Géologie générale*
R. KERN ..... *Minéralogie*
L. SIDERIADES ..... *Physique*
J.-M. SURZUR ..... *Chimie organique*
J. SENEZ ..... *Microbiologie*

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mlle C. CLARION ..... *Mécanique des fluides*
MM. R. AMAR ..... *Zoologie*
J. CHOUTEAU ..... *Physiologie animale*
L. DEVEZE ..... *Biologie marine*
H. CHANTREL ..... *Physique de l'espace*
J. MANDELBROJT ..... *Physique nucléaire*
F. BOREL ..... *Techniques mathématiques de la physique*
J. BLANC ..... *Géologie marine*
Mlle R. CHANDEBOIS ..... *Biologie animale*
MM. A. BOURDILLON ..... *Biologie animale*
R. PHILIP ..... *Physique*
M. BIZOUARD ..... *Physique*
R. GUENOCHE ..... *Mathématiques appliquées*
J. RICARD ..... *Botanique*
J.-P. DAVID ..... *Physique*
H. BODOT ..... *Chimie*
J.-C. TRAYNARD ..... *Chimie industrielle*
G. DUCET ..... *Agronomie tropicale*
Mme F. PECAUT ..... *Mathématiques* (Avignon)
MM. Roger MOLINIER ..... *Biologie végétale*
J. HENNEQUIN ..... *Electronique*
L. CAPELLA ..... *Minéralogie*
J.-C. MAIRE ..... *Chimie*
Y. POIRIER ..... *Physique*

MAITRES DE CONFERENCES

MM. H. PATIN ..... *Chimie*
S. COMBET ..... *Chimie*
Mlle L. LAGARDE ..... *Chimie minérale*
Mlle S. GUEIRARD ..... *Pétrographie*
MM. C. FEUGEAS ..... *Chimie*
J. CABANE ..... *Chimie*
G. RASIGNI ..... *Physique*
H. BACRY ..... *Physique théorique*
G. LAPLUYE ..... *Chimie* (C.E.S.S. - La Réunion)
Mme L. CARBONNEL ..... *Chimie*
MM. R. GARRON ..... *Physique expérimentale*
J. BOULON ..... *Astronomie*
Mlle M. PICHENOT ..... *Biologie végétale*
MM. M. SIMON ..... *Physiologie animale*
M. CADILHAC ..... *Physique*
A. PONS ..... *Biologie végétale*
M. EGO ..... *Mathématiques* (C.E.S.S. - La Réunion)
G. MARCHIS-MOUREN .. *Chimie biologique*
P. BILLARD ..... *Mathématiques*
F. HALBWACHS ..... *Physique* (Avignon)
M. GILLET ..... *Physique*
B. WAEGELL ..... *Chimie*
M. LAZDUNSKI ..... *Chimie biologique*
J.-P. ROGGERO ..... *Chimie* (C.S.U - Avignon)
J. CRESP ..... *Biologie animale*

A HELENE, MA FEMME,

Ce travail doit beaucoup à ton affectueuse patience.

A MARIE-DOMINIQUE,

CATHERINE-CLAUDE,

ANNE-CLAUDE,

mes filles.

A JEAN-CLAUDE,

mon fils.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur EDOUARD CALVET
Officier de la Légion d'Honneur

IN MEMORIAM

C'est en 1950 que j'eus l'honneur d'entrer dans son Laboratoire.

Dès l'abord je ne pus discerner ce qui préférentiellement m'attirait en lui ; était-ce le brillant de son enseignement, son intelligence intuitive, son sens de la logique expérimentale, son génie de l'improvisation productive, son sens de l'humain ou sa bonté sans nuage, mais j'étais fier d'être son élève, à vrai dire un peu privilégié, car il avait toutes les indulgences pour le médecin que je suis.

Il n'est plus là pour juger un travail qu'il a directement inspiré, et dans lequel sa généreuse amitié avait voulu voir une prolongation de sa Thèse inaugurale.

Ma peine est immense, car moi seul sais tout ce que je lui dois.

A MON MAITRE

Monsieur le Professeur G. MORIN

Doyen de la Faculté Mixte de Médecine
et Pharmacie de Marseille

Officier de la Légion d'Honneur

Il n'est que juste que ce travail vous soit très spécialement dédié.

Vous seul savez combien je vous suis redevable, car dans les moments difficiles ce n'est jamais en vain que je me suis tourné vers vous.

Qu'il me soit donné d'être toujours digne de votre confiance et de votre sollicitude.

A MON JURY DE THESE

Monsieur le Professeur Marc LAFFITTE

Vous m'avez, Monsieur, spontanément témoigné de l'intérêt, ne ménageant ni vos conseils, ni votre aide efficaces.

Qu'il me soit donné de pouvoir travailler sous votre férule, attiré que je suis par votre intelligence éclectique et votre esprit de finesse.

Monsieur le Professeur Jean SAUREL

Une amitié de trente ans nous unit. Mais c'est au physicien qui par ses critiques objectives et ses avis pertinents a permis la réalisation de ce travail que je voudrais ici témoigner toute ma gratitude.

Monsieur le Professeur Hubert BODOT

Vous m'avez accueilli sans réticence, me guidant d'une main amicalement secourable dans les méandres redoutés de l'analyse conformationnelle. Soyez-en ici très sincèrement remercié.

A Monsieur le Professeur R. MERIGOUX

Vous voulez bien m'initier aux complexités de l'étude physico-chimique des phénomènes aux interfaces, m'accueillant avec une courtoisie sans égale dans votre Service.

Conscient de tout ce que m'a déjà apporté votre enseignement, qu'il me soit permis d'en bénéficier encore dans l'avenir.

Au Révérend Père F.-M. CAMIA

Docteur ès Sciences

Ingénieur (C.N.R.S.)

Votre amical enthousiasme m'a converti aux félicités de la Thermique et de la critériologie thermocinétique. Je vous dois beaucoup, mon père.

A Monsieur le Professeur Jean VAGUE

Professeur de Clinique Endocrinologique

Médecin des Hôpitaux

Qui, en nous confiant, pendant quinze ans la direction technique du Laboratoire d'Hormonologie, a rendu possible la réalisation de ce travail.

A Monsieur Paul BOVIS

Docteur ès Sciences

Votre intelligence féconde, et votre sens de l'expérimental ont très souvent été le meilleur des guides. Je regrette très vivement de ne point avoir eu la chance de bénéficier de votre enseignement.

A Monsieur Pierre BOIVINET

Maître de Conférences

Docteur ès Sciences

Au terme d'une fertile collaboration de quinze ans, qu'il me soit permis de remercier ici à la fois l'ami, et celui qui m'a enseigné la technique microcalorimétrique.

A Monsieur Robert ROUX

Docteur 3e Cycle

Technicien à l'I.N.H.

Votre dynamique activité, vos jeunes connaissances sont toujours pour moi d'un grand recours. Puisse notre féconde collaboration vous aider à parvenir aux destinées que votre valeur mérite.

... C'est ici où l'union des deux sciences mathématiques et physique peut donner de grands avantages : l'une donne le combien et l'autre le comment des choses ; et comme il s'agit ici de combiner et d'estimer des probabilités pour juger si un effet dépend plutôt d'une cause que d'une autre, lorsque vous avez imaginé par la physique le comment, c'est-à-dire lorsque vous avez vu qu'un tel effet pourrait bien dépendre de telle cause, vous appliquez ensuite le calcul pour vous assurer du combien de cet effet avec sa cause.

(BUFFON, Premier Discours.)

INTRODUCTION

La description de l'évolution d'un système chimique nécessite la connaissance d'une des relations existant entre la vitesse de transformation, le temps de réaction, ou la composition du mélange réactionnel ($V=f[t]$, $V=f[c]$, $c=f[t]$). Vitesse ou concentration actuelles peuvent, en principe, être obtenues plus ou moins directement par diverses méthodes chimiques ou physiques, les procédés les meilleurs étant, par essence, ceux qui, tout en ne perturbant en rien le cours de la réaction, permettront un enregistrement en continu des variations du ou des paramètres choisis.

Il est connu depuis longtemps que la variation d'enthalpie associée à une transformation chimique en solution diluée, est directement proportionnelle au nombre de molécules transformées ; il paraît donc possible, à la condition formelle d'adopter une méthodologie convenable, de suivre l'évolution d'un système chimique au moyen du Microcalorimètre E. CALVET, qui est en fait un fluxmètre thermique autorisant l'enregistrement fidèle, en continu, des variations en fonction du temps, de la puissance thermique correspondant au phénomène étudié.

C'est pour vérifier cette proposition que depuis quelques années nous nous sommes attachés à l'étude des conditions d'oxydation des monohydroxystéroïdes par l'anhydride chromique en milieu acétique, la réaction étant suivie non seulement d'une manière globale par la méthode microcalorimétrique, mais aussi parallèlement, et à titre de contrôle, par détermination spectrophotométrique en continu de la teneur en Cr^{VI} résiduel.

La mise en œuvre de ces méthodes nous a conduit à rechercher et souvent à préciser les modalités optimales d'utilisation du Microcalorimètre

E. Calvet en thermocinétique, la difficulté essentielle provenant de ce que, pour les phénomènes chimiques d'évolution rapide, le thermogramme obtenu expérimentalement n'est en fait qu'une anamorphose de la courbe réellement représentative des variations de la puissance thermique provenant de la réaction étudiée dans la cellule-laboratoire et cela en raison de l'amortissement inéluctable des phénomènes diffusifs.

Les résultats obtenus par les deux méthodes — microcalorimétrique et spectrophotométrique — une fois confrontés, l'établissement des paramètres cinétiques et thermodynamiques de la réaction étudiée devrait permettre d'une part de mieux expliciter le mécanisme d'une réaction dont, à vrai dire les modalités peuvent paraître quelquefois assez incertaines, et d'autre part d'essayer de retrouver des corrélations entre conformation des stéroïdes et évolution réactionnelle, d'autant que la méthode calorimétrique apporte cet élément essentiel à la discussion qu'est la connaissance des chaleurs de réaction.

La mise en forme des résultats et leur exploitation sincère impose l'utilisation de méthodes statistiques, et l'appréciation aussi objective que possible du mode de transmission des erreurs expérimentales afin que soit déterminé leur degré de certitude et que soient fondées d'éventuelles interprétations cinétiques ou structurales.

Nous nous sommes particulièrement attachés à essayer de maîtriser ces erreurs expérimentales, car en fait, il faut bien le dire, le choix du matériel réactionnel en l'occurrence les hydroxystéroïdes, n'a pas été absolument gratuit, et c'est dans l'espoir d'en obtenir des conclusions pratiques que ce travail a été entrepris. En effet, s'il est avéré que les méthodes de détermination des hydroxystéroïdes non cétoniques font très souvent appel à une oxydation préalable, en général chromique, du groupement hydroxylique, les modalités intimes de la réaction sont encore assez mal connues ; d'autre part, la métabolisation dans l'organisme des stéroïdes endogènes ou exogènes procède, la plupart du temps par oxydations enzymatiques successives des groupements hydroxyliques, et il est certain que le comportement pharmacodynamique souvent très différencié de structures voisines n'est en fait lié qu'à une impossibilité conformationnelle de se plier aux conditions thermodynamiques spécifiques de la réaction enzymatique ; puissent les quelques faits expérimentaux qui vont être rapportés dans ce travail aider à mieux expliciter ces relations essentielles entre conformation, action physiologique et activité pharmacodynamique.

CHAPITRE PREMIER

Le Microcalorimètre E. Calvet

Dès l'abord, il convient de rappeler que l'étude systématique par voie thermo-électrique des phénomènes de faible débit calorifique a été entreprise en 1923 au Laboratoire de Chimie Générale de la Faculté des Sciences de Marseille par le Professeur A. Tian (1, 2, 3) qui a donné dans une note à l'Académie des sciences, en 1924, le principe d'un « Microcalorimètre à compensation par effet Peltier et Joule ».

Cet appareil, utilisé dans sa forme originelle par M^me^ Béranger-Calvet pour l'étude des chaleurs de dissolution (6) vit, pour la première fois semble-t-il, s'affirmer sa véritable vocation cinétique dans la thèse inaugurale du Professeur Edouard Calvet, traitant dès 1933 des « Mesures thermochimiques directes en chimie organique ; vitesse et chaleur de saponification des amides » (7).

Plus de trente ans ont passé et, de modifications en modifications, n'a subsisté de l'appareil initial que le principe de compensation par effet Peltier et Joule, ce qui permet à bon droit de parler à l'heure actuelle du microcalorimètre E. Calvet, instrument aujourd'hui classique et d'utilisation universelle qui, par la multiplicité des travaux qu'il a permis et qu'il a pu susciter, a pris une place très particulière dans l'arsenal des moyens de recherche en thermochimie. Aussi, serait-il assez vain d'entreprendre ici une description exhaustive d'un appareil dont on retrouvera tous les détails de conception, de construction et d'utilisation dans les deux ouvrages fondamentaux de E. Calvet : *Microcalorimétrie, application physicochimique et biologique* (8) et *Récents progrès en Microcalorimétrie* (9), ainsi que dans les multiples publications provenant de l'Institut de Microcalorimétrie et Thermogénèse de Marseille, Institut fondé très spécialement par le Professeur Edouard Calvet pour mettre en évidence et exploiter toutes les possibilités du Microcalorimètre, mais aussi afin d'essayer de mettre sur pied une théorie complète de cet appareil.

D'une manière très générale, ce calorimètre est essentiellement constitué par l'assemblage d'éléments dont chacun comprend :

1° une cellule cylindrique en argent de diamètre faible par rapport à la longueur ; cette cellule admet dans son centre une cellule laboratoire en verre ou en acier inoxydable, dans laquelle se déroule le phénomène à étudier ; la paroi de la cellule en argent est définie comme étant l'enceinte interne ;

2° une enceinte métallique à grande capacité thermique, et à haute diffusivité constitue l'enceinte externe ;

3° enceinte interne et enceinte externe sont mises en relation par un très grand nombre de thermocouples disposés radialement et entourant complètement la cellule interne. Ces thermocouples sont associés en deux ensembles, l'un servant à la détection des différences de température entre les deux enceintes, l'autre pouvant par effet Peltier être utilisé pour compenser la chaleur produite dans la cellule laboratoire.

Une des caractéristiques essentielles de l'appareil d'Edouard Calvet est précisément la distribution radiale des thermocouples ; en effet on peut démontrer que, si leur nombre est suffisant, la force électromotrice de la pile détectrice est alors constamment proportionnelle au flux de chaleur qui s'échappe de la cellule laboratoire, quelles que soient les modalités de distribution des variations de température à la surface et à l'intérieur de celle-ci.

Généralement deux éléments identiques que l'on maintient à chaque instant à la même température sont associés : dans la cellule de l'un (cellule laboratoire) sont produits les phénomènes à étudier, l'autre élément servant alors de témoin. Il est ainsi possible d'opérer par comparaison et d'éliminer l'influence éventuelle des fluctuations de température au niveau de l'enceinte externe, en effet le problème pratiquement insoluble de la fixité de température dans le temps est ainsi remplacé par celui, beaucoup plus simple, de son équipartition spatiale.

En pratique, le bloc calorimétrique comporte quatre éléments identiques qui peuvent être associés deux à deux, soit en opposition, soit en série.

Le bloc est placé dans un thermostat à enceintes multiples (1) constituées par trois enveloppes minces d'aluminium, isolées par des feuilles d'amiante ; une dernière enveloppe épaisse et deux cônes d'aluminium jouant le rôle de collimateur thermique permettent de répartir symétriquement les perturbations sur les éléments opposés (Boivinet, 10).

L'enveloppe externe porte une résistance de chauffage assurant la fixité de température au moyen d'un dispositif de régulation électronique.

L'ensemble est isolé thermiquement et mis en outre à la terre de façon très soigneuse. Le dispositif d'enregistrement comportant un galvanomètre à miroir couplé avec un suiveur de spot à plusieurs vitesses d'enregistrement.

En outre, il est préférable de mettre l'ensemble dans une pièce climatisée avec régulation de la température et de l'humidité. C'est ainsi qu'au cours de nos expériences qui se sont déroulées à 20° C et à 37° C, la salle enfermant le dispositif de mesure a été portée aux mêmes températures pendant toute la durée de chaque série d'expériences, l'état hygrométrique restant par ailleurs pratiquement constant.

Dans ces conditions opératoires, l'appareil enregistre une courbe donnant, en fonction du temps (abscisse), une ordonnée proportionnelle à la force électromotrice de la pile thermoélectrique détectrice et par conséquent à la différence de température entre les soudures internes et externes.

Lorsque le phénomène détecté n'est pas trop rapide, la puissance thermique produite dans l'enceinte interne peut être représentée valablement par l'équation fondamentale de TIAN (4, 5) :

$$W = f(t) = \left(\frac{p}{g}\right) \Delta + \left(\frac{\mu}{g}\right) \frac{d\Delta}{dt}$$

dans laquelle :

W est la puissance thermique exprimée en calorie $.h^{-1}$,

Δ la déviation en mm,

$\frac{p}{g}$ le coefficient de fuite thermique ($\frac{p}{g} = \frac{1}{\sigma}$, σ étant la sensibilité).

$\frac{\mu}{g}$ le coefficient d'inertie thermique.

L'équation de TIAN peut aussi se mettre sous la forme :

$W = \frac{\Delta}{\sigma} + \tau \frac{d\Delta}{dt}$, dans laquelle τ constante de temps de calorimètre est égale à $\frac{\mu}{p}$.

Mais cette équation n'est représentative que des phénomènes relativement lents. En effet, lorsqu'il s'agit d'un effet thermique à variations rapides, le thermogramme obtenu est essentiellement une représentation de la variation de température θ de l'enceinte interne en fonction du

temps : $\theta = g(t)$ [1], qui n'est au fond qu'une anamorphose de la courbe représentative des variations de la puissance thermique provenant de la réaction étudiée dans la cellule laboratoire, et cela parce que d'une manière générale les phénomènes diffusifs s'amortissent par essence.

Toute la difficulté est donc d'obtenir à partir de la courbe : $\theta = g(t)$, la courbe $W = f(t)$ effectivement représentative de la thermocinétique. Le problème a été résolu par G. Laville (11, 12) et F.-M. Camia (13).

La variation de température θ de l'enceinte interne en fonction du temps peut, d'une manière générale, s'exprimer symboliquement par une somme d'ailleurs rapidement convergente d'exponentielles qui dans la pratique pourra se réduire à deux termes.

En effet, si une quantité de chaleur ΔQ est produite dans la cellule laboratoire correspondant à une puissance W_0, on peut en distinguant le temps u de chauffage du temps d'observation t, écrire :

$$\theta = a\, W_0\, d\, u \left[\int_o^t e^{-\omega_1 (t-u)} - \int_o^t e^{-\omega_2 (t-u)} \right]$$

dans laquelle : W_0 représente la puissance mise en jeu,

$d\,u$: le temps de chauffage,

a : une constante d'étalonnage,

ω_1 et ω_2 : des constantes dépendant essentiellement et formellement du montage utilisé.

En posant $\theta = \theta_1 + \theta_2$,

avec $\theta_1 = a\, W_0\, d\, u \int_o^t e^{-\omega_2 (t-u)}$

$$\theta_2 = a\, W_0\, d\, u \int_o^t e^{-\omega_1 (t-u)}$$

et en dérivant par rapport au temps on obtient :

$$\frac{d\theta}{dt} = -\omega_1\, \theta_1 + \omega_2\, \theta_2$$

d'où l'on tire :

$$\frac{\omega_2 - \omega_1}{\omega_2}\, \theta_1 = \theta + \frac{1}{\omega_2}\, \theta'$$

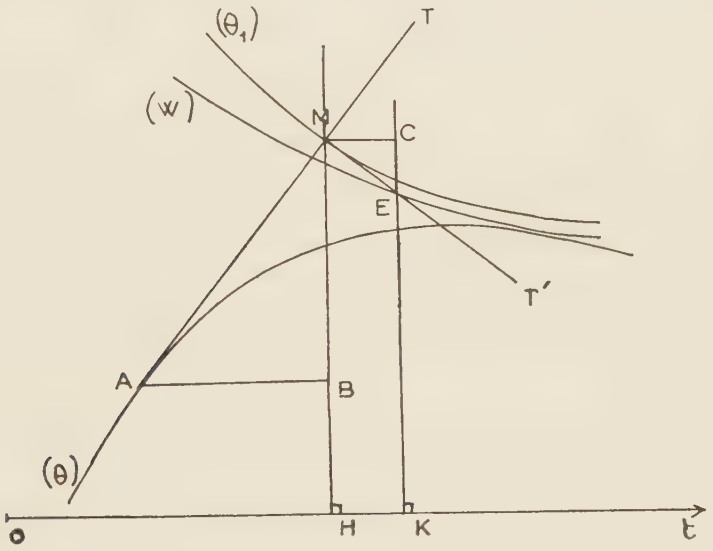
Ce qui montre qu'à partir du thermogramme θ et de sa courbe dérivée θ', il est possible d'obtenir θ_1 si ω_1 et ω_2 sont connus. Corréla-

tivement, la connaissance de θ_1 permet d'obtenir la courbe de thermocinétique $W = f(t)$ effectivement représentative du phénomène thermique ; en effet :

$$W = \frac{\omega_1 \theta_1}{a} + \frac{1}{a} \theta'_1$$

Il est évidemment possible d'obtenir par calcul la courbe W à partir de la courbe θ, mais une solution graphique élégante a été proposée par F.-M. Camia :

— soit A un point de la courbe θ (fig. I - 1) ; on trace en A la tangente à la courbe θ, soit AT.



— CORRECTION DU THERMOGRAMME

(θ) : THERMOGRAMME

(θ1) : PREMIÈRE COURBE CORRIGÉE

W : DEUXIÈME COURBE CORRIGÉE

AB = τ_1

CM = τ_2

Fig. I-1

Par ailleurs en A on porte $\overline{AB} = \frac{1}{\omega_2}$, et cela parallèlement à l'axe Ot.

Le point d'intersection M de AT et de la perpendiculaire BH sur l'axe Ot est représentatif de $\frac{\omega_2 - \omega_1}{\omega_2\ \theta_1}$, puisque :

$$\overline{HM} = \overline{HB} + \overline{BM} = \theta + \frac{1}{\omega_2}\ \theta'$$

On construit ainsi par point la courbe : $\frac{\omega_2 - \omega_1}{\omega_2}\ \theta_1$

Cette courbe une fois tracée on refait la même construction que précédemment, mais en utilisant $\frac{1}{\omega_1}$: on mène $\overline{MC}$ parallèle à Ot et égal à $\frac{1}{\omega_1}$ et la tangente MT' à la courbe θ_1 et au point M.

Le point E, intersection de cette tangente et de CK perpendiculaire à l'axe Ot, appartient à la courbe de thermocinétique W ; il est donc possible d'obtenir graphiquement en opérant point par point la courbe W à partir du thermogramme enregistré θ. Les termes $\frac{1}{\omega_1}$ et $\frac{1}{\omega_2}$ sont, en fait, les constantes de temps des termes exponentiels. Tout changement de la géométrie thermique entraîne une modification de la valeur de ces constantes : aussi leur détermination convenable impose de laisser en place conjointement, pendant tout le temps des mesures, dispositif d'étalonnage et dispositif expérimental.

Pour respecter cette condition essentielle, nous avons proposé (14), la cellule laboratoire étant déjà disposée pour l'expérience, de créer un déséquilibre thermique par apport extérieur de chaleur (ou de froid) et cela en utilisant la série de thermocouples habituellement destinés à la compensation par effet Peltier.

On voudra bien retrouver plus loin (cf. ch. IV) un exemple détaillé de détermination des constantes de temps de l'appareil.

En définitive, il apparaît possible en l'état actuel d'obtenir à partir du thermogramme enregistré la courbe effectivement représentative du phénomène étudié ; si, pour l'instant, l'obtention de cette courbe réelle nécessite une construction graphique assez longue, il convient de noter que des études préliminaires (F.-M. Camia, 13) ont montré la possibilité de résoudre ce problème en utilisant un calculateur analogique, l'obtention automatique des courbes de thermogénèse en est au stade de la mise au point finale et va rendre possible l'utilisation systématique du Microcalorimètre Calvet dans tous les problèmes de thermocinétique pour lesquels, de par les principes mêmes qui ont présidé à sa conception, il a depuis toujours une vocation privilégiée.

CHAPITRE II

Utilisation des relations Vitesse-Temps en Thermocinétique

La description de l'évolution d'un système chimique nécessite la connaissance d'une des relations existant entre la vitesse de transformation, le temps de réaction, ou la composition actuelle du mélange réactionnel [$V = f(t)$, $V = f(c)$, $c = f(t)$]. Mais, en définitive, c'est directement ou indirectement la vitesse de réaction qui constitue la grandeur significative, elle se définit dans le cas le plus général comme la variation du nombre de molécules d'une espèce chimique quelconque — réaction ou produit — au cours du temps.

Si l'on considère une réaction chimique quelconque (à volume constant et admettant un ordre global n) :

$$aA + bB \rightarrow cC + dD \quad (1)$$

dans laquelle a moles du corps A réagissent avec b moles du corps B pour donner c moles du corps C et d moles du corps D, et telle qu'au temps t, x moles du corps A ont réagi, la vitesse V de la réaction par rapport au corps A s'exprime par la formule :

$$V = \frac{dx}{dt} = k\,(a-x)^{\alpha}\,(b-sx)^{\beta} \quad (2)$$

dans laquelle :

— k : constante de vitesse de la réaction par rapport au corps A,

— a et b : les concentrations initiales respectives des corps A et B,

— α : l'ordre partiel par rapport au corps A,

— β : l'ordre partiel par rapport au corps B,

— s : le nombre de moles du corps B, stoechiométriquement nécessaires pour réagir avec une mole du corps A, en particulier lorsque $\frac{b}{a} = s$,

la réaction est stoechiométrique et on peut écrire la relation (2) sous la forme suivante :

$$V = k.s^{\beta}(a-x)^{n} \quad (3)$$

avec $n = \alpha + \beta$, n étant alors l'ordre global de la réaction.

Or, le bilan thermique d'une réaction chimique en solution réalisée dans la cellule laboratoire d'un microcalorimètre peut être établi de la façon suivante :

— si Q, quantité de chaleur calculée à partir du thermogramme obtenu, représente l'ensemble des phénomènes thermiques survenant au cours et à l'occasion de la réaction,

— si Q_d représente l'ensemble des phénomènes thermiques initiaux provenant essentiellement et exclusivement de la mise en présence des réactifs (mélanges, dilutions, etc.), tous phénomènes très rapides et par nature non influencés par le cours même de la réaction,

— si ΔH_0 est la chaleur de réaction par mole d'un des corps réactifs pris pour référence,

— et si enfin x est le nombre de moles du réactif de référence, ayant agi au temps t, on peut écrire :

$Q = Q_d + x\ \Delta H_0$ (4) ou en dérivant :

$$W = \frac{dQ}{dt} = \frac{dQ_d}{dt} + \frac{dx}{dt}\Delta H_0 \quad (5)$$

le terme dQ_d/dt tend très rapidement vers zéro. Il est alors possible, à bon droit, et cela peu de temps après le début de la réaction, d'écrire la relation (5) sous la forme suivante :

$$W = \frac{dQ}{dt} = \frac{dx}{dt}\Delta H_0 \quad (6)$$

dans laquelle :

— $\frac{dx}{dt}$ est bien la vitesse de réaction à l'instant t, vitesse de réaction par rapport au réactif pris pour référence et dont la chaleur molaire de réaction est par définition ΔH_0.

— W étant la puissance thermique à l'instant t, c'est-à-dire à un coefficient de proportionnalité près, l'ordonnée à l'instant t du thermogramme corrigé, représentant effectivement la thermogénèse cinétique. Le coefficient de proportionnalité est de 3.600 σ, σ étant la sensibilité du calorimètre dans les conditions expérimentales, sensibilité exprimée en l'occurrence en $mm.cal^{-1}.h^{-1}$.

En définitive, la relation (6) est fondamentale et peut s'écrire :

$$W = \Delta H_0 . V \quad (7)$$

et la vitesse de réaction est donc donnée par :

$$V = \frac{W}{\Delta H_0} \quad (8)$$

En conséquence, la courbe de thermocinétique obtenue après correction convenable est une représentation fidèle, à une constante près ΔH_0, des variations de la vitesse de réaction en fonction du temps, et cela à partir du moment où les phénomènes thermiques initiaux sont devenus négligeables, voire nuls.

Il est donc alors possible de remplacer dans les relations (2) et (3) la vitesse V par sa valeur équivalente $\frac{W}{\Delta H_0}$; il vient alors :

$$W = k . \Delta H_0 \, (a - x)^{\alpha} \, (b - sx)^{\beta} \quad (9)$$

et

$$W = k . \Delta H_0 . s^{\beta} \, (a - x)^{n} \quad (10)$$

L'obtention des paramètres cinétiques de la réaction (ordre et constante de vitesse) se résume alors à l'emploi des méthodes classiques en cinétique formelle, utilisation des relations vitesse-concentration (puissance thermique-concentration), ou vitesse-temps (puissance thermique-temps).

Si, lorsque la réaction n'est pas réalisée en proportion stoechiométrique, il est formellement indispensable de connaître à des temps différents les concentrations et les vitesses correspondantes, il est possible, lorsque les réactifs sont en proportion stoechiométrique d'utiliser la relation suivante proposée par Jungers (16) :

$$\frac{V_1^p - V_2^p}{t_1 - t_2} = \text{constante} = (n-1)k^{1/n} \quad (11)$$

dans laquelle V_1 et V_2 représentent la vitesse de réaction au temps t_1 et t_2, n est l'ordre global, avec $p = \frac{1}{n} - 1$, k étant la constante de vitesse, cette relation n'étant évidemment valable que pour les réactions d'ordre global différentes de 0 et 1.

En particulier, comme $V = \frac{W}{\Delta H_0}$, on peut écrire :

$$\frac{W_1^p - W_2^p}{t_1 - t_2} = (n-1) \, K^{1/n} \, \Delta H_0^p = \text{constante} \quad (12), \text{ avec } K = k . s^{\beta}$$

et :

$$\frac{W_1^p - W_2^p}{t_1 - t_2} = U \quad (13)$$

TABLEAU II-1

Détermination de l'ordre global de la réaction

6 micromoles 3 α OH - 5 α androstane/4 micromoles CrO_3 - 20° C

A. — Calculs préliminaires

t	$10^6.W$	$\lambda.10^6.W$	Δ t	$\log(10^6.W)$	log Δ t
1.080	41,1	32,88	294	1,61384	2,46835
1.200	37,4	29,92	308	1,57287	2,48870
1.320	34,2	27,36	322	1,53403	2,50786
1.440	31,3	25,04	337	1,49554	2,52763
1.560	28,8	23,04	351	1,45939	2,54531
1.680	26,6	21,28	366	1,42488	2,56348
1.800	24,7	19,76	380	1,39270	2,57978
1.920	23,0	18,40	394	1,36173	2,59550
2.040	21,4	17,10	408	1,33041	2,61066
2.160	20,0	16,00	422	1,30103	2,62531

B. — Calculs définitifs

(1)	(2)	(1/p)	n
0,04097	— 0,02035	— 2,01	1,99
0,03884	— 0,01916	— 2,02	1,98
0,03849	— 0,01977	— 1,94	2,06
0,03615	— 0,01768	— 2,04	1,96
0,03451	— 0,01817	— 1,89	2,12
0,03218	— 0,01630	— 1,97	2,03
0,03097	— 0,01572	— 1,97	2,03
0,03132	— 0,01516	— 2,06	1,94
0,02938	— 0,01463	— 2,00	2,00

(1) $\log(10.^6.W_i) - \log(10^6.W_{i+1})$

(2) $\log(\Delta t_i) - \log(\Delta t_{i+1})$

— t, Δt : seconde

— W : $cal.s^{-1}$

— λ : 0,8

a) Détermination de l'ordre global

A partir de la relation (11), Jungers suggère de déterminer par approximations successives, la valeur de n qui permet d'obtenir un coefficient constant pour tout l'intervalle de réaction, ce qui suppose à priori que la réaction est stoechiométrique.

Nous proposons de déterminer l'ordre n à partir de la relation (13), de la façon suivante :

en posant $\frac{W_2}{W_1} = \lambda$, la relation (13) peut s'écrire :

$$W_1^p = \frac{U\ (t_1 - t_2)}{1 - \lambda^p} \qquad (14)$$

d'où l'on tire :

$$\log\ (W_1) = (\frac{1}{p}.\log\ (t_1 - t_2) + \frac{1}{p}.\log\ (\frac{U}{1 - \lambda^p}) \qquad (15)$$

En conséquence, on choisit sur la courbe thermocinétique un certain nombre de valeurs : W_1, W_2..., W_n, correspondant à des temps t_1, t_2..., t_n, mais cela uniquement à partir du moment où les phénomènes extrinsèques initiaux peuvent être considérés comme négligeables.

Pour chaque valeur W_n, et pour une valeur constante de λ on détermine la valeur W_j correspondante, telle $W_j = \lambda\ W_n$; W_j étant connu, il est immédiat de déterminer le temps t_j correspondant. On fait de même avec un certain nombre de valeurs W de rang $n+1$, $n+2$... auxquelles correspondent les valeurs W de rang $j+1$, $j+2$..., ainsi que les temps t_{j+1} t_{j+2}..., et on peut en définitive écrire d'après la relation (15) :

$$\log W_{n+1} - \log W_{n+2} = \frac{1}{p}\left[\log\ (t_{j+1} - t_{n+1}) - \log\ (t_{j+2} - t_{n+2})\right] \qquad (16)$$

Il est donc possible d'obtenir p soit graphiquement, soit par le calcul, et en particulier de procéder à une évaluation statistique de ses limites.

Comme $p = \frac{1}{n} - 1$, l'ordre global n est connu immédiatement.

Réciproquement, si à partir de la valeur de p ainsi établie :

$$\frac{W_i^p - W_j^p}{t_i - t_j} = \text{Constante} \qquad (17)$$

on peut affirmer que la réaction a été réalisée en proportion stoechiométrique. C'est ainsi qu'après Grimmer (17), nous avons pu vérifier que

deux molécules de CrO_3 sont indispensables pour oxyder trois molécules d'un monohydroxystéroïde.

On retrouvera dans le tableau II-1 un exemple détaillé des calculs indispensables pour l'établissement de l'ordre global de la réaction.

b) Détermination de la constante U

La détermination de l'ordre global n va permettre le calcul de la constante U. En effet, à partir de plusieurs valeurs consécutives W_i, W_{i+1}..., on détermine la valeur moyenne de U pour l'unité de temps choisie $(t_{i+1} - t_i)$

Pratiquement, U a été déterminé à partir de 12 valeurs consécutives de la puissance thermique W (cf. tableau II-2).

TABLEAU II-2

Détermination de la constante U

(Valeurs courantes)

6 micromoles - 3 α OH - 5 α Androstane/4 micromoles CrO_3 - 20° C

t	$10^6 . W$	$10^3 . W^{1/2}$	$W^{1/2}$	$10^4 . U$
1.080	41,1	6,411	155,981	
1.200	37,4	6,116	163,505	627,0
1.320	34,2	5,848	170,998	624,4
1.440	31,3	5,595	178,731	644,4
1.560	28,8	5,367	186,323	632,7
1.680	26,6	5,158	193,873	629,2
1.800	24,7	4,970	201,207	611,2
1.920	23,0	4,796	208,507	608,3
2.040	21,4	4,626	216,169	638,5
2.160	20,0	4,472	223,613	620,3
2.280	18,6	4,313	231,857	687,0
2.400	17,5	4,183	239,063	600,5

t : seconde
W : $cal . s^{-1}$
U : $cal . ^{-1/2} . s^{-1/2}$.

On obtient ainsi onze valeurs de U, d'où l'on pourrait tirer une valeur moyenne. Mais il apparaît plus logique de combiner entre elles ces douze valeurs de W pour obtenir une valeur moyenne de U, statistiquement valable, et échappant davantage aux fluctuations éventuelles des valeurs de la puissance thermique W. Pour cela, il convient de remarquer

qu'il existe 286 possibilités de combinaisons pour douze valeurs consécutives de W (W_1, W_2, W_3..., W_{12}). Le nombre de ces combinaisons est donné par la formule suivante :

$$\sum_{p=2}^{N=12} C_N^p = \frac{12!}{2!(12-2)!} + \frac{11!}{2!(11-2)!} + \frac{10!}{2!(10-2)!} + \frac{9!}{2!(9-2)!} + \frac{8!}{2!(8-2)!} + \frac{7!}{2!(7-2)!} + \frac{6!}{2!(6-2)!} + \frac{5!}{2!(5-2)!} + \frac{4!}{2!(4-2)!} + \frac{3!}{2!(3-2)!} + \frac{2!}{2!(2-2)!} = 286 \quad (18)$$

et en définitive la valeur moyenne de U sera donnée par la relation :

$$\overline{U} = \frac{1}{286.\Delta t}\Big[(11.W_{12}^{-1/n} + 9.W_{11}^{-1/n} + 7.W_{10}^{-1/n} + 5.W_9^{-1/n} + 5.W_8^{-1/n} + 1.W_7^{-1/n}) - (1.W_6^{-1/n} + 3.W_5^{-1/n} + 5.W_4^{-1/n} + 7.W_3^{-1/n} + 9.W_2^{-1/n} + 11.W_1^{-1/n}) \Big] \quad (19)$$

C'est ainsi que pour l'exemple rapporté dans le tableau II-2, il a été possible d'obtenir les deux séries de valeurs suivantes :

	10^4.U courant (N = 12)	10^4.U (N = 286)
Moyenne	629,4	628,9
Erreur-type	6,982	2,287
t (p = 0,05)	2,23	1,96
Erreur relative	2,4 %	0,7 %

La détermination de $\overline{U}$ à partir de 286 valeurs conduit d'évidence à une meilleure précision, et on voudra bien se rapporter au chapitre IV pour retrouver le mode de calcul des paramètres statistiques.

La connaissance exacte de la constante $\overline{U}$ est fondamentale, pour permettre de déterminer par récurrence la courbe de thermocinétique (courbe de vitesse) au tout début de la réaction chimique, dans une zone où, comme cela a déjà été signalé, elle est expérimentalement perturbée par des phénomènes thermiques extrinsèques.

c) Détermination de la puissance thermique initiale W_o (vitesse initiale)

La relation :

$$W_i^p - W_i^p = (t_i - t_{i+1}) U. \qquad (20)$$

permet à partir d'une valeur W de rang n, de déterminer la valeur W de rang (n—1), etc. En particulier, il est ainsi possible de connaître avec une très grande exactitude le terme de rang O, c'est-à-dire l'ordonnée à l'origine de la courbe de thermocinétique qui correspond à la vitesse initiale de la réaction. Cette ordonnée à l'origine W_o est un élément extrêmement important dans le calcul des autres paramètres cinétiques.

TABLEAU II-3

Détermination de l'ordonnée à l'origine W_O

(Vitesse initiale)

6 micromoles - 3 α OH 5 α Androstane/4 micromoles CrO_3 - 20° C

t	A partir de U courant			A partir de U moyen	
	$10^4.U$	$10^3.W_o^{1/2}$	$10^6.W_o$	$10^3.W_o^{1/2}$	$10^6.W_o$
1.200	627,0	11,329	128,35	11,359	129,02
1.320	629,4	11,289	127,44	11,366	129,18
1.440	644,4	11,636	135,40	11,341	128,61
1.560	632,7	11,413	130,26	11,336	128,50
1.680	629,2	11,342	128,64	11,335	128,48
1.800	611,2	10,966	120,25	11,363	129,11
1.920	608,3	10,904	118,90	11,397	129,89
2.040	638,5	11,639	136,47	11,380	129,50
2.160	620,3	11,157	124,48	11,393	129,80
2.280	687,0	13,294	176,73	11,303	127,75
2.400	600,5	10,533	110,94	11,347	128,75

W : cal.seconde^{-1}

t : seconde

U : cal.$^{-1/2}$.s$^{-1/2}$

C'est ainsi que dans le tableau II-3 est rapporté un exemple de détermination. A partir de chaque valeur expérimentale W (tableau II-2, colonne 2) a été calculé le terme de rang O, en utilisant soit les valeurs courantes de la constante U (tableau III, colonne 4), soit sa valeur moyenne (tableau II-3), colonne 6).

La variabilité des résultats obtenus par la première méthode de calcul a conduit à adopter systématiquement l'utilisation de la valeur moyenne de U, qui permet d'arriver pour l'exemple rapporté dans le tableau II-3, à une valeur moyenne de W_o égale à 128, 96 cal. 10^{-6}, avec un écart-étalon de 0,632 cal. 10^{-6}.

d) Détermination de la chaleur de réaction ΔH_o

Dans toute réaction stoechiométrique la vitesse initiale est donnée par la relation :

$$V_o = K.a^n \qquad (21)$$

On peut donc écrire :

$$W_o = K.a^n.\Delta H_o \qquad (22)$$

Or, d'après la relation (12) :

$$U = \frac{W_1^p - W_2^p}{t_1 - t_2} = (n-1)K^{1/n}.\Delta H_o^p$$

Il est donc possible en combinant les relations 12 et 22 d'obtenir la valeur de ΔH_o :

$$\Delta H_o = \frac{(n-1)\ W_o^{1/n}}{U.a} \qquad (23)$$

à partir des valeurs expérimentales de l'ordre global n, de l'ordonnée à l'origine W_o, et de la constante U.

Il convient de remarquer, en outre, que la variation d'enthalpie de la réaction (c'est-à-dire en fait et à une constante près la surface de la courbe de thermocinétique) est donnée par :

$$a.\Delta H_o = \frac{(n-1)\ W_o^{1/n}}{U} \qquad (24)$$

On retrouvera dans le tableau II-4 les valeurs de la chaleur de réaction par rapport au corps A : 3 α OH-5 α androstane, calculées d'une part (colonne 2) à partir des valeurs courantes de U et de W_o, d'autre part (colonne 3) à partir de la valeur moyenne de U. On remarquera ici que les valeurs moyennes de ΔH_o ne présentent pas de différences statistiquement significatives.

TABLEAU II-4

Chaleur molaire de réaction ΔH_0

(Stérol)

6 micromoles - 3 α OH 5 α Androstane/4 micromoles CrO_3 - 20° C

t	ΔH (1)	ΔH_o (2)
1.200	30,114	30,102
1.320	30,132	30,120
1.440	30,095	30.054
1.560	30,064	30,041
1.680	30,043	30,038
1.800	29,902	30,112
1.920	29,875	30,203
2.040	30,381	30,158
2.160	29,977	30,193
2.280	32,251	29,953
2.400	29,233	30,070

(1) A partir de U et W_o courant — (2) A partir de U moyen.

	ΔH_o (1)	ΔH_o (2)
Moyenne	30,187	30,094
Erreur type	0,223	0,073
$t.\sigma_m$	0,739	0,220

t : seconde

ΔH_o = k.cal.mole^{-1}.

TABLEAU II-5

Constante de vitessse k

(Stérol)

6 micromoles - 3 α OH - 5 α Androstane/4 micromoles CrO_3 - 20° C

t	k (1)	k (2)
1.200	1,775	1,782
1.320	1,762	1,787
1.440	1,874	1,783
1.560	1,804	1,782
1.680	1,784	1,782
1.800	1,675	1,786
1.920	1,658	1,791
2.040	1,814	1,789
2.160	1,730	1,791
2.280	2,283	1,777
2.400	1,581	1,782

(1) A partir de U et W_o courant — (2) A partir de U moyen.

	k (1)	k (2)
Moyenne	1,794	1,785
Erreur type σ_m	0,0542	0,003
$t.\sigma_m$	0,120	0,006

t : seconde

k : mole.l $^{1}.s^{-1}$

e) Détermination de la constante de vitesse K

D'après la relation : $W_o = K.a^n.\Delta H_o$ [22], on peut écrire :

$$K = \frac{W_o}{a^n . \Delta H_o} \qquad (25)$$

d'où l'on obtient, en remplaçant $a.\Delta H_o$ par sa valeur donnée par la relation [23] :

$$K = \frac{W_o^{(1 - 1/n)} . U}{a^{(n-1)} . (n-1)} \qquad (26)$$

Il est donc possible de connaître directement K, avec $K = k.s\beta$, k étant la constante de vitesse par rapport au corps A.

Or, au cours de l'exposé de la méthode de détermination de l'ordre global n, on a vu qu'il était possible de vérifier la stoechiométrie de la réaction, donc de connaître s.

Par ailleurs, par la méthode classique d'isolement d'Oswald, on peut connaître commodément les ordres partiels α et β en prenant simultanément un des réactifs en proportion très élevée par rapport à l'autre.

C'est ainsi que dans le cas des réactions étudiées dans ce travail, il a été possible de vérifier que $\alpha = \beta = 1$.

On retrouvera dans le tableau II-5 un exemple de détermination de la valeur k avec, toujours, la discrimination entre les valeurs obtenues à partir de U et de W_o courants (colonne 2) et celles calculées à partir de U moyen (colonne 3).

On constate ici que les valeurs moyennes ne se différencient pas de façon significative.

En définitive, à partir des relations vitesse et temps, il est possible, la courbe de thermocinétique une fois obtenue, de calculer tous les paramètres cinétiques d'une réaction réalisée en proportion stoechiométrique, et cela sans être obligé de connaître les variations de concentration des réactifs au cours de la réaction.

Par ailleurs, il est certain que dans le cas de réactions non stoechiométriques, la connaissance des variations de la concentration en fonction du temps est un élément indispensable.

Mais il est toujours possible, par une expérimentation préalable de définir les conditions exactes de la stoechiométrie et, celles-ci une fois établies, d'utiliser l'appareillage microcalorimétrique en tant que procédé d'enregistrement en continu de la vitesse de réaction.

CHAPITRE III

Mécanismes éventuels de l'oxydation chromique des alcools secondaires

Après la découverte du chrome en 1797 par VAUQUELIN (18, 13), il semble que ce soit MOISSAN (20) qui, le premier, en 1884, ait proposé d'utiliser l'anhydride chromique en chimie organique pour, en l'occurrence, oxyder l'éthanol. Ce réactif est devenu depuis d'utilisation classique pour la dégradation des alcools primaires en acides et des alcools secondaires en cétones.

Dans le domaine de la chimie des stéroïdes et des terpènes, MAUTHNER et SUIDA (21), dès 1896, l'utilisent pour essayer de localiser les groupements fonctionnels du cholestérol. Il serait vain de rappeler ici tous les travaux ayant trait à l'utilisation de cet agent d'oxydation, aussi bien dans les techniques préparatives que dans les techniques analytiques ; qu'il soit permis simplement de citer les travaux de RUZICKA (22) sur la dégradation chromique des terpènes, ceux de FIESER (23) sur les dérivés oxydés du cholestérol, et de rappeler la place de ce réactif dans la méthodologie des étapes préparatoires de l'hémi-synthèse des stéroïdes hormonaux à partir des saponines stéroïdes.

D'une manière générale, les dérivés du chrome ont une place tout à fait particulière parmi les agents d'oxydation utilisés dans la chimie des stéroïdes (MnO_2 - OsO_4 - IO_4 - Acide bismuthique - N. Bromo-acétamide - N. Bromosuccinimide - Tétra-acétate de Plomb), en effet, ils attaquent de façon préférentielle les hydroxyles axiaux.

On utilise le chrome :

— soit sous forme de chromate :

  — t. butylchromate (OPPENAUER, 24, 25),

  — Na_2Cro_4 anhydre (MEULY, 26),

  — $Na_2Cro_7.2H_2O$ (FIESER, 23),

— soit sous forme d'anhydride chromique, les solvants différant suivant les auteurs :

- — Acétone/eau/acide sulfurique (Jones, 27),
- — Acide acétique/acide perchlorique (Rocek, 45),
- — Acide acétique/pyridine (Poos, 28),
- — Acide acétique/acide trichloracétique/morpholine (Grimmer, 17),
- — Acide acétique 90,9 % (Schreiber, 29),
- — Acide acétique anhydre (Fieser, 23).

Il va sans dire que cette liste n'est pas limitative et que les exemples de milieux réactionnels rapportés ci-dessus n'ont été choisis qu'en raison de leur fréquente utilisation dans le domaine particulier de l'oxydation des stérols.

On pourrait penser qu'un agent d'oxydation d'utilisation aussi courante procède par des mécanismes univoques et bien établis. En réalité, d'une littérature très abondante, mais souvent contradictoire, il est seulement possible d'entrevoir les avenues qui permettront un jour de connaître le mécanisme exact de l'oxydation chromique.

En effet, essayer d'expliciter le mécanisme de l'action du chrome semble nécessiter au préalable de pouvoir répondre aux questions suivantes :

— la réaction consiste-t-elle en une donation à la molécule organique d'un ou plusieurs atomes d'oxygène provenant de l'acide chromique ?

— ou est-ce une déshydrogénation directe, et dans ce cas quel est l'atome d'hydrogène qui disparaît le premier ?

— sous quelle espèce chimique exacte le chrome agit-il, ion ou molécule ?

— éventuellement, quelles sont les modalités exactes du transfert d'électrons ? Est-ce un processus à un ou deux électrons ?

Dans le premier cas, des radicaux libres intermédiaires apparaîtront ; dans le cond, il y a nécessité d'apparition de formes instables et transitoires (Cr^{V} et Cr^{IV}).

Or, si l'oxydation des substances organiques procède la plupart du temps par étapes successives, les produits finaux diffèrent très souvent des réactants par un nombre pair d'électrons.

C'est cet ensemble de problèmes que s'attachent à résoudre plus ou moins totalement toutes les théories proposées, mais on doit avant tout se référer à celle de F.-H. Westheimer et de son école d'une part, et

d'autre part aux travaux de ROCEK et de l'école tchécoslovaque, qui, bien que contradictoires, permettent d'envisager un mécanisme correspondant assez bien aux résultats expérimentaux.

A - THÉORIE DE WESTHEIMER (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36)

Dans un premier temps, WESTHEIMER a cherché à démontrer les possibilités d'existence à l'état transitoire du chrome à la valence IV et V. En effet, les agents réducteurs qui perdent préférentiellement un électron réduisent d'abord l'acide chromique en une molécule où l'ion chrome est sous forme pentavalente. Les étapes suivantes de la réaction ne dépendent que des autres propriétés éventuelles de l'agent réducteur.

Quand le réducteur donnera deux électrons à la fois, les modifications du chrome pourront être symbolisées de la façon suivante :

1 - $Cr^{VI} + H_2A \rightarrow Cr^{IV} + A$

2 - $Cr^{VI} + Cr^{IV} \rightarrow 2Cr^{V}$

$Cr^{V} + H_2A \rightarrow Cr^{III} + A$

le second processus étant d'ailleurs, selon WESTHEIMER, le seul stoechiométriquement plausible.

Il est en effet habituel de classer les agents réducteurs en deux catégories, suivant qu'ils cèdent un ou deux électrons à la fois. Cette classification paraît justifiée malgré les efforts de certains auteurs pour n'envisager comme possible, au cours de l'oxydation, que des étapes ne comportant chaque fois qu'un transfert d'un électron unique.

C'est ainsi que BROWNE étudiant l'oxydation de l'hydrazine (80), a obtenu des produits différents suivant l'agent oxydant utilisé et a été conduit à envisager deux classes d'oxydants, les « mono-dé-électronateurs » et les « di-dé-électronateurs », et, d'après WESTHEIMER, les réactions d'oxydo-réduction impliqueraient toujours la présence de di-dé-électronateurs. Reste à confirmer l'existence au cours du processus d'oxydation, de formes instables du chrome (Cr^{V} et Cr^{IV}) ; WESTHEIMER fonde essentiellement son raisonnement analogique sur les modalités de l'oxydation induite décrite par KESSLER en 1883.

Dans toutes les oxydations chromiques induites, le facteur d'induction (équivalents d'agents réducteurs oxydés/équivalents d'inducteurs oxydés) d'oxydation apportés par chaque mole de $HCrO_4^-$, au moins un sinon est soit 2, soit 0,5, ce qui revient à dire que, sur les trois équivalents deux sont utilisés au cours de l'oxydation induite ; ce qui expliquerait que le chrome soit nécessairement à la valence V ou IV dans le composé intermédiaire de la réaction.

C'est ainsi que l'oxydation des sels manganeux par l'acide chromique est induite par l'ion arsenite selon :

$$Cr^{VI} + As^{III} \rightarrow Cr^{IV} + As^{V} \quad (3)$$

$$Cr^{IV} + Mn^{II} \rightarrow Cr^{III} + Mn^{III} \quad (4)$$

$$2Mn^{III} + 2H_2O \rightarrow MnO_2 + Mn^{II} + 4H^+ \quad (5)$$

On voit donc que, lorsque le facteur d'induction est de 0,5, l'agent d'oxydation est bien le chrome tétravalent.

WESTHEIMER ayant ainsi démontré l'importance capitale du chrome à la valence IV ou V dans les processus d'oxydation, s'attache ensuite à expliciter la cinétique de la transformation des alcools secondaires en cétones et prend pour exemple l'oxydation de l'alcool isopropylique en milieu acétique aqueux ; c'est ainsi que dans les conditions expérimentales choisies, la réaction pourrait être représentée par l'équation suivante :

$$3CH_3CHOHCH_3 + 2HCrO_4^- + 8H^+ \rightarrow 3CH_2COCH_3 + 2Cr^{+++} + 8H_2O \quad (6)$$

Le chrome hexavalent pourrait exister dans le milieu réactionnel soit sous forme d'ions chromate acide ($HCrO_4^-$), soit sous forme de dichromate ($Cr_2O_7^{- \ - \ -}$), soit sous les deux formes à la fois ; la constante d'équilibre entre ces deux formes serait de 0,023 (NEUSS et RIEMAN, 49).

En première approximation la vitesse de la réaction serait alors d'une part directement proportionnelle à la concentration en chrome et en alcool, et d'autre part proportionnelle au carré de la concentration en ions hydrogène. Plus précisément pour WESTHEIMER elle dépendrait de façon assez compliquée de la concentration globale en chrome, l'étape déterminante de la réaction comportant la présence d'un ion chromate acide, d'une molécule d'alcool et de deux ions hydrogène.

Mais pour tenir compte des résultats obtenus lorsqu'on ajoute au milieu réactionnel des ions manganeux, qui à la concentration de 0,001 M diminuent de moitié la vitesse de consommation du chrome, WESTHEIMER a proposé à titre d'hypothèse les systèmes d'oxydation suivants, qui pourraient théoriquement rendre compte du mécanisme :

I

$$Cr^{VI} + H_2A \rightarrow Cr^{IV} + A$$
$$Cr^{IV} + H_2A \rightarrow Cr^{II} + A$$
$$Cr^{VI} + Cr^{II} \rightarrow Cr^{V} + Cr^{III}$$
$$Cr^{V} + H_2A \rightarrow Cr^{III} + A$$

II

$$Cr^{VI} + H_2A \rightarrow Cr^{IV} + A$$
$$Cr^{VI} + Cr^{IV} \rightarrow 2Cr^{V}$$
$$Cr^{V} + H_2A \rightarrow Cr^{III} + A$$

III

$$Cr^{VI} + H_2A \rightarrow Cr^{IV} + A$$
$$Cr^{IV} + H_2A \rightarrow Cr^{II} + HA^{\bullet}$$
$$Cr^{VI} + HA^{\bullet} \rightarrow Cr^{V} + A$$
$$Cr^{V} + H_2A \rightarrow Cr^{III} + A$$

IV

$$Cr^{VI} + H_2A \rightarrow Cr^{IV} + A$$
$$Cr^{IV} + H_2O \rightarrow Cr^{III} + HO^{\bullet}$$
$$HO + H_2A \rightarrow H_2O + HA^{\bullet}$$
$$Cr^{VI} + HA^{\bullet} \rightarrow Cr^{V} + A$$
$$Cr^{V} + H_2A \rightarrow Cr^{III} + A$$

Malgré la diversité de ces différents processus on remarquera que la première étape comporte toujours l'échange de deux électrons.

Une autre question essentielle, nous l'avons vu, est de déterminer quel est l'ordre de départ des ions hydrogène. WESTHEIMER a résolu ce problème de façon élégante en comparant les vitesses d'oxydation de l'alcool isopropylique ordinaire et du 2-deutero.2 propanol ; la vitesse d'oxydation du composé deutéré est environ le sixième de celle de l'alcool isopropylique normal. Ceci semble confirmer que l'atome d'hydrogène adjacent à l'hydroxyle est le premier enlevé, la rupture de la liaison C-H se faisant au premier temps de la réaction. En effet par un raisonnement classique on peut inférer que, si l'attaque initiale se faisait sur l'hydrogène de l'hydroxyle, il n'y aurait aucune différence de vitesse d'oxydation entre l'alcool deutéré et l'alcool ordinaire.

Mais WESTHEIMER poursuit son analyse de la cinétique plus loin et met en évidence la formation rapide d'un monoisopropyl-chromate qui, ensuite, par un processus plus lent impliquant la présence d'une base telle que l'eau, conduirait à la formation d'acétone et d'un composé du chrome de valence IV.

En effet, WESTHEIMER aurait pu extraire du milieu réactionnel par le benzène du monoisopropylchromate et montrer que ce complexe se décompose en acétone sous l'influence de la pyridine ; en outre, dans une expérience ultérieure, aurait pu être mise en évidence l'action accélératrice de la pyridine sur la vitesse de réaction, lorsque cette base est ajoutée au milieu oxydant.

En définitive, dans les milieux faiblement acides, la réaction d'oxydation pourrait s'effectuer selon les trois étapes suivantes :

$$H^+ + HCrO_4^- \overset{\text{rapide}}{\rightleftarrows} H_2CrO_4$$

$$(CH_3)_2CH{-}OH + H_2CrO_4 \overset{\text{rapide}}{\rightleftarrows} (CH_3)_2CH{-}O{-}CrO_3H + H_2O \quad (7)$$

$$(CH_3)_2\overset{H}{C}{<}OCrO_3H + H_2O \overset{\text{lent}}{\rightarrow} (CH_3)_2CO + H_3O^+ + HcrO_3^-$$

alors que dans les milieux plus fortement acides, l'ester chromate formé serait protonaté, et de ce fait se décomposerait plus rapidement que l'ester libre, selon le schéma :

$$[(CH_3)_2CHOCr^{V}O_3H_2]^+ + H_2O \rightarrow (CH_3)_2CO + H_3O^+ + H_2Cr^{IV}O_3 \quad (8)$$

Pour Westheimer l'étape importante de ce mécanisme serait évidemment la formation de cet ester intermédiaire, qui permettrait en outre d'expliquer les différences de vitesses de réaction suivant la teneur du milieu en acide acétique ; c'est ainsi que dans un milieu réactionnel contenant de l'acide acétique à 85 %, la vitesse de réaction est 250 fois plus grande que lorsque le milieu contient un acide minéral, bien que la fonction acide H_0 soit identique, et 2.500 fois plus grande que dans un milieu aqueux présentant cependant la même concentration en ions hydrogène. Westheimer explique cet effet en supposant que l'acide acétique déplace l'équilibre d'estérification en faveur de l'ester ; mais cette explication n'est évidemment valable que pour expliquer l'oxydation des alcools secondaires, alors que cependant on retrouve cette même accélération suivant les concentrations en acide acétique lors de l'oxydation des hydrocarbures et de certains acides dicarboxyliques ; c'est à partir de cette faille dans la théorie de Westheimer que Rocek a pu, contradictoirement, proposer un nouveau mécanisme explicatif.

B - Théorie de Rocek (37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48)

L'expérience témoigne de nombreuses analogies entre les mécanismes d'oxydation chromique des alcools et des hydrocarbures. Or, pour ces derniers, la formation de l'ester ne peut être évidemment invoquée par essence ; le mérite de Rocek et de son école est d'avoir mis sur pied une théorie cinétique permettant dans tous les cas de rendre compte des modalités de l'oxydation chromique.

Il apparaît rapidement que seule une cession de l'atome hydrogène de la molécule organique à l'agent oxydant doit être envisagée ; mais, comme d'une part il a toujours été impossible de mettre en évidence des radicaux libres au cours de la réaction, et comme d'autre part, il est certain

(Westheimer) que l'oxydation des alcools procède toujours d'un mécanisme à deux électrons, Rocek suggère avec quelques raisons que le départ de l'atome d'hydrogène doit s'effectuer sous forme d'un ion hydrure selon :

$$\geqslant C - H + Cr^{VI} \rightarrow \geqslant C^{(+)} + Cr^{IV} + H^{+} \quad (9)$$

Certes, ce mécanisme n'est pas inhabituel, il a pu être vérifié par Bartlett et Mac Collum (51) entre autres, qui trouvent au cours de l'oxydation du propane-2ol-2d en acétone par le triphénylméthanol en solution acide, une réduction du cation triphénylméthyl en deutéro-triphénylméthane. En outre, Stewart (50) constate que l'oxydation du benzhydrol par le permanganate de potassium en solution alcaline implique nécessairement un transfert d'un anion hydrure à l'agent oxydant. D'ailleurs, Bartlett et Mac Collum ont pu vérifier que l'utilisation d'un propanol deuteré conduisait à un même ralentissement de la vitesse d'oxydation ($K_H/K_D = 6,65$) que celui retrouvé par Westheimer ($K_H/K_D = 6,7$).

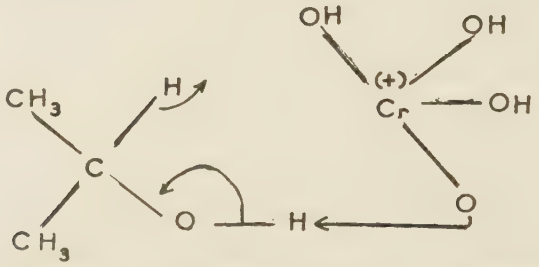
En définitive, pour Rocek la formation d'un ester n'est pas formellement indispensable à la réalisation de l'oxydation, l'hydrogène étant transféré sous forme d'anion et non en tant que proton, ce qui d'ailleurs implique que l'état de transition de la réaction n'est pas tributaire de la présence d'une molécule d'eau ou d'une autre base.

C'est ce que Rocek a entrepris de vérifier en mesurant la vitesse d'oxydation de l'alcool isopropylique par le Cr^{VI}, dans des milieux aqueux contenant de 5 à 70 % d'acide sulfurique, la réaction étant suivie par polarographie. Le coefficient de corrélation entre le logarithme de la constante de vitesse K_2 et les différentes valeurs de H_0 est de 0,91, ce qui implique que le mécanisme proposé dans l'équation 9 est le seul valable. En effet, d'après la loi de Zucker-Hammett (81), une relation linéaire entre la constante de vitesse et la fonction acidité H_0 exclue la participation d'une base à l'état de transition.

Par ailleurs, l'agent d'oxydation pourra être soit l'acide chromique libre, soit, si le milieu réactionnel est plus acide en cation chromacidium ($H_3CrO_4^+$) ou alternativement l'ion ($HCrO_3^+$).

Cependant, le mécanisme global d'oxydation par l'ion chromacidium tel qu'il est figuré dans le schéma ci-dessus (9), ne peut rendre compte de l'existence de vitesse d'oxydation différente pour des composés de structure électronique très voisine, comme les alcools et leurs éthers. En effet, il est connu que les alcools sont oxydés plus rapidement, ce qui peut être expliqué en admettant que dans ce cas, et dans ce cas seulement, le transfert de l'anion hydrure est contemporain d'une modification du groupe carbonyl, avec apport de l'hydrogène de l'hydroxyle à un autre

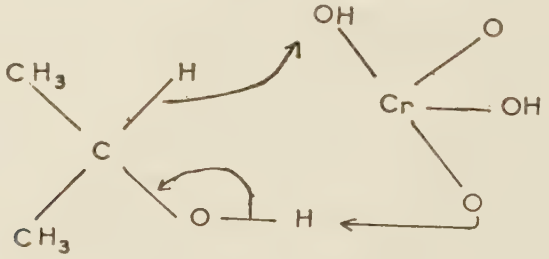
niveau de la molécule oxydante et cela selon le processus cyclique ci-dessous :



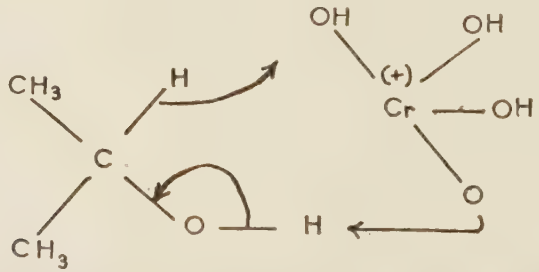
dans lequel la rupture de la liaison C—H est non seulement prévalente mais s'effectue d'abord. Rocek retrouve d'ailleurs une preuve de la réalité de cet état de transition cyclique dans l'existence d'une entropie d'activation élevée, qui serait de l'ordre de — 27,5 $cal^{-1}.d^{-1}.mole^{-1}$, dans le cas de l'oxydation de l'alcool isopropylique.

Le mécanisme de la réaction dans les milieux très acides ou non aqueux pose de nouveaux problèmes. En effet, deux modalités peuvent être envisagées suivant le degré d'acidité du milieu.

Dans les milieux d'acidité moyenne, l'état de transition serait représenté par :



alors que dans les milieux très acides on pourrait avoir :



En effet, Lewitt (52) a montré que le cation chromacidium $H_3CrO_4^+$ est la forme oxydante la plus puissante du chrome et lorsque ce cation prédomine, la réaction est nécessairement plus rapide ; cependant en dehors

de ces deux espèces chimiques (acide chromique libre et cation chromacidium) sous lesquelles l'oxydation peut se faire, il semble que, lorsque le solvant de la réaction est exclusivement de l'acide acétique anhydre, apparaisse une 3e forme encore plus active, qui pourrait être soit l'acide acétylchromique CH_3COCrO_3H, soit même son conjugué $CH_3COCrO_3H_2^+$; il est en effet certain que, lorsque l'hydrogène hydroxylique est remplacé par un groupement acétyl, une diminution considérable de la densité électronique apparaît au niveau de l'atome de chrome central, augmentant nécessairement la réactivité électrophile, c'est-à-dire, en fait le pouvoir oxydant. Rocek imagine même que dans l'acide acétique anhydre peuvent subsister des formes déshydratées, telles que CrO_3 ou CrO_3H, la très haute réactivité de telles espèces de chrome étant évidente. Dans ce cas la réaction peut être alors schématisée globalement selon :

$$\begin{array}{ccc} \text{Alcool} + \text{Acide chromique} & \overset{\text{lent}}{\rightleftarrows} & \text{Produits} \\ \Updownarrow \text{ très lent} & & \\ \text{Ester (?)} & & \end{array}$$

cette interprétation du mécanisme est la seule qui permette de rendre compte des analogies entre les modalités d'oxydation des alcools et des hydrocarbures.

Par ailleurs, une autre preuve de la conformité de la théorie de Rocek, avec les résultats expérimentaux, peut être inférée des constatations de Kwart et Francis (53) qui, étudiant les effets des substituants en para sur la vitesse d'oxydation du 1-phényl-éthanol, retrouve la séquence suivante de réactivité suivant la nature du substituant :

$$CH_3O - > \text{tert} - C_4H_9 - > CH_3 - > H - > Cl - > NO_2$$

les constantes de vitesse se conformant d'ailleurs à la relation linéaire $\rho - \sigma$ de Hammet (81). Il est évident que ces réactivités relatives sont en opposition absolue avec ce que l'on serait en droit d'attendre, si la théorie de Westheimer était justifiée ; en effet, les éléments très électro-négatifs, tel que NO_2, auraient facilité l'arrachement d'un proton dans l'hypothèse de la formation transitoire d'un ester, ce qui devrait nécessairement conduire à une échelle de réactivité inverse de celle que l'on retrouve expérimentalement. Or, le mécanisme de Rocek dans lequel l'étape initiale consiste en un transfert d'un ion hydrure, permet seul d'expliquer ces différentes réactivités. En effet, il est évident que l'arrachement d'un atome d'hydrogène sous forme d'anion hydrure est d'autant plus facile que la densité électronique au voisinage de la liaison C—H augmente, c'est-à-dire au fur et à mesure que les substituants en para deviennent davantage électro-positifs. Cette règle a été vérifiée d'autre part en comparant les vitesses d'oxydation relatives des dérivés para du toluène qui décroissent en raison directe de l'électro-négativité relative des substituants.

En définitive, de la thèse de WESTHEIMER, ROCEK ne retient que le concept de rupture précoce de la liaison C—H juxta-hydroxylique que les faits expérimentaux confirment formellement, et qui, comme cela sera vu plus tard, rend compte de la plus grande vitesse d'oxydation des hydroxyles axiaux.

En outre, il convient de souligner que dans les milieux réactionnels présentant une forte acidité, ROCEK considère que la vitesse de réaction devient totalement indépendante de la concentration en acide ; elle peut être alors représentée par :

$$\frac{d\,[CrO_3]}{dt} = K_2\,[CrO_3].([ROH] + [ROH_2^+])$$

dans laquelle K_2 est la constante de vitesse du deuxième ordre déterminée expérimentalement, CrO_3 est la concentration en Cr^{VI}, [ROH] la concentration en alcool, et $[ROH_2^+]$ la concentration en conjugué acide de cet alcool.

En dehors de ces deux derniers faits, que faut-il retenir des diverses théories tendant à expliquer les modalités d'oxydation chromique des alcools secondaires ?

Avant tout, qu'il s'agit d'une réaction hétérolytique, liée à une perte d'électron par paire ; il y a en effet toute raison de penser que l'intervention de radicaux libres qui impliquerait nécessairement une rupture homolytique des liaisons de valence, peut être, dès l'abord, écartée.

Et d'autre part, qu'il est nécessaire que soient respectées les trois étapes spécifiques du mécanisme de l'oxydation en milieu acide, telles qu'elles sont formulées par LEWITT d'une manière symbolique.

1° l'atome électro-positif de l'oxydant capte toujours une paire d'électrons libres au détriment du réducteur, et cela au niveau d'un centre de haute densité électronique ; il se forme alors une liaison coordinée, et l'atome initialement attaqué devient alors électropositif.

2° cette charge positive est détruite par expulsion d'un fragment électro-positif, en général H^+, ou par combinaison avec un anion immédiatement disponible.

3° il apparaît alors un état de transition dans lequel le complexe organique néoformé expulse un nouveau fragment chargé positivement, ou se combine avec un deuxième ion électro-négatif.

Mais il conviendra surtout en définitive de remarquer la frappante analogie entre les étapes initiales de la réaction d'oxydation, et le mécanisme classique des réactions acide-base, l'atome électro-négatif de la molécule organique jouant en fait le rôle de base de LEWIS, alors que l'oxydant sous la forme ionique est, à tout prendre, un acide de LEWIS typique.

CHAPITRE IV

Conditions expérimentales

L'étude des modalités d'oxydation en milieu acéto-chromique de certains monohydroxystéroïdes a été entreprise pour juger de la possibilité d'obtention des paramètres cinétiques d'une réaction en solution à partir de la courbe de thermocinétique (relations vitesse-temps), comme cela a été exposé au chapitre II.

Chaque fois, et dans des conditions aussi identiques que possible (réactifs, température, etc.), le taux de décroissance du Cr^{VI} a été suivi spectrophotométriquement et les paramètres de la réaction calculés à l'aide des relations classiques concentration-temps, afin d'être comparés avec ceux obtenus à partir de l'étude microcalorimétrique.

Il convient maintenant d'exposer les modalités expérimentales qui ont été respectées au cours de cette étude, et en particulier après avoir décrit les réactifs et les dispositifs expérimentaux utilisés, de préciser les conditions exactes de leur mise en œuvre.

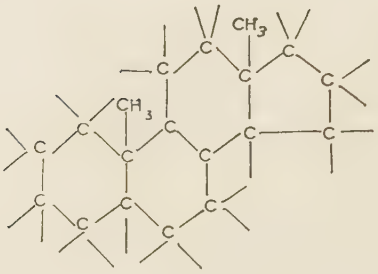
I. - LES REACTIFS

Quatorze monohydroxystéroïdes différents ont été oxydés par l'anhydride chromique en milieu acétique anhydre. Après un rappel de quelques-unes de leurs propriétés physico-chimiques générales, seront indiquées les conditions de détermination de ces substances.

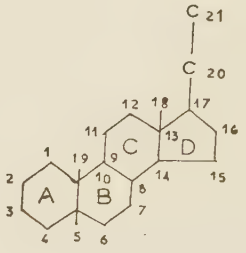
A - Stéroides

Le terme générique de stéroïde s'applique non seulement aux quelques 400 composés naturels retrouvés pour la plupart de façon ubiquitaire dans le règne animal et végétal, mais encore à plusieurs milliers de corps synthétiques, l'unité structurale commune étant le noyau stérane.

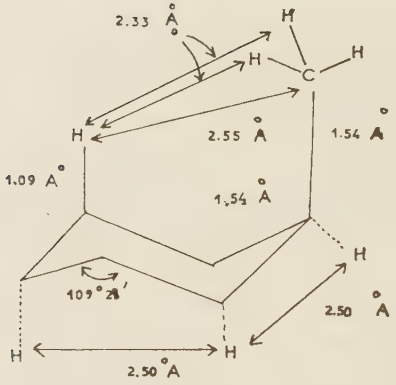
La structure de base est formée par la fusion de trois cycles cyclohexanes (A, B et C), et d'un cycle cyclopentane (D) (figure IV, 1). En positions 10 et 13 apparaissent 2 groupements méthyl, et, de la nature



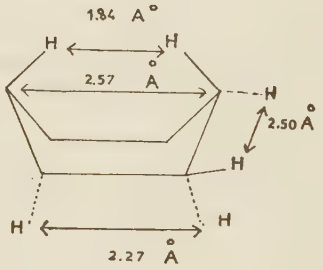
IV 1



IV 2



IV 3



IV 4

du substituant en position 17 découle une première possibilité de classification élémentaire des stéroïdes en plusieurs groupes :

— *R : H ou O*
hormones sexuelles en C_{19}

— *R : chaîne oxygénée à 2 atomes de carbone*
hormones corticoïdes en C_{21}

— *R : chaîne acétyl*
hormones dérivées de la progestérone

— *R : chaîne linéaire ou branchée en C_8 ou C_{10}*
stérols végétaux ou cholestérol

— *R : structure hétérocyclique*
saponines, stéroïdes, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes.

La seule exception à cette structure générale étant, dans le groupe des substances œstrogènes naturelles, la disparition du substituant C_{19}, ayant pour conséquence l'apparition d'un cycle aromatique en A.

En raison de la structure tétraédrique de l'atome de Carbone, les atomes communs à 2 cycles adjacents sont des centres d'asymétrie ; il en est ainsi pour les carbones 5, 10, 9, 8, 14 et 13. Ce qui conduit à une possibilité éventuelle de 64 stéréoisomères ; en outre, toute nouvelle substitution sur l'un quelconque des autres atomes de Carbone entraînera l'apparition d'un nouveau centre d'asymétrie.

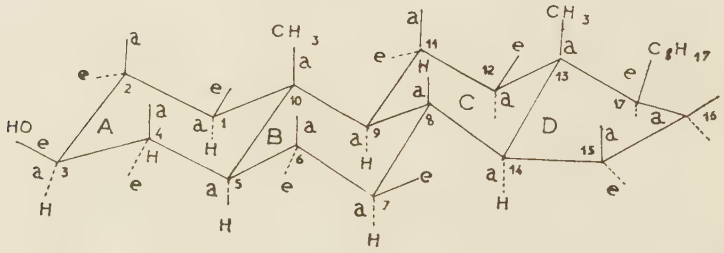
Par convention la numérotation adoptée est celle indiquée dans la figure IV-2. En outre, les substituants en C_{10} et en C_{13} sont, dans les molécules naturelles, situés toujours dans le même plan, et on désignera par α ou β la position des autres substituants suivant qu'ils seront en arrière de ce plan ou dans ce plan. C'est ainsi que, d'une manière générale, des substituants en position 10, 9, 8, 14 et 13 auront la configuration suivante : 10β, 9α, 8β, 14α, et 13β.

Par ailleurs, la conformation exacte de la molécule a été essentiellement établie à partir des travaux de Barton (54, 55, 56), qui ont montré dès 1950 tout l'intérêt que l'on pouvait attendre de l'utilisation du concept de Hassel (57) sur les liaisons équatoriales et axiales en vue de déterminer la structure stéréochimique des stéroïdes.

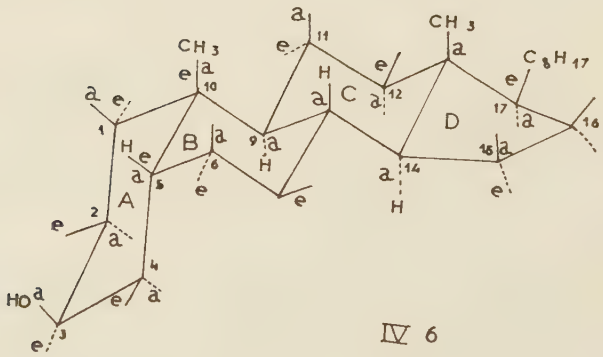
On sait classiquement que la conformation chaise (fig. IV-3) est plus stable que la conformation bateau (fig. IV-4), cela a été bien établi à partir des considérations thermodynamiques ou spectroscopiques (I.R. ou Raman), et confirmé depuis par les données de la diffraction électronique. C'est ainsi que la stabilité relative d'un cycle peut être appréciée à partir des distances inter-nucléaires (cf. fig. IV-3 et 4).

En effet, l'instabilité augmente en raison inverse des distances inter-nucléaires, et c'est ainsi que FIESER (23) donne les variations suivantes de l'énergie potentielle en fonction de la distance :

Distance inter-nucléaire	Energie potentielle
Å	K.cal./mole
1,8	9,1
2,0	5,0
2,2	2,7
2,4	1,4
2,6	0,7
2,8	0,4
3,0	0,2



IV 5



IV 6

En outre, comme l'a suggéré WILSON (58), une contribution énergétique supplémentaire peut provenir de l'importance de la densité électronique au niveau ou à proximité de la liaison axiale.

Dans la série des stéroïdes naturels, la position relative des cycles B et C, et C et D est toujours trans. Le cycle A a une position moins rigide et peut être soit en position trans, soit en position cis, par rapport au cycle B. Cela dépendra essentiellement de la position de l'hydrogène en 5 qui, en position α, conduira à la série A/B trans (cholestane, 5 α androstane, pregnane) — fig. IV-5 —, et en position β conduira à la série A/B cis (coprostane, 5 β androstane, allopregnane) — fig. IV-6. Il est alors possible de définir au niveau de chaque atome une conformation axiale ou équatoriale pour chaque substituants éventuels, suivant que ce dernier sera en position α ou β par rapport au méthyl angulaire de référence :

Position	A/B trans		A/B cis	
	α	β	α	β
1	a	e	e	a
2	e	a	a	e
3	a	e	e	a
4	e	a	a	e
5	a	—	—	a(A), e(B)
10	—	a	—	e(A), a(B)
6	e	a	e	a
7	a	e	a	e
8	—	a	—	a
9	a	—	a	—
11	e	a	e	a
12	a	e	a	e
13	—	a	—	a
14	a	—	a	—
15	e(C)	a(C)	e(C)	a(C)
17	a(C)	e(C)	a(C)	e(C)

En outre, il convient de rappeler que lorsque apparaîtra une double liaison 4-5 ou 5-6, la conformation sera très approximativement analogue à celle retrouvée dans la série A/B trans.

C'est à partir de ces considérations structurales que Barton (55) a pu tirer quelques règles générales :

— un substituant est en général plus stable en orientation équatoriale,

— un groupe hydroxylé équatorial est plus facilement estérifié qu'un groupe axial en même position,

TABLEAU IV-1

Nomenclature des stéroïdes oxydés

A. — Stéroides en C_{19}

N°	Nom systématique	Nom commun	F. brute
1	5 α androstane 3 α ol	—	$C_{19}H_{32}O$
2	5 α androstane 3 β ol	—	$C_{19}H_{32}O$
3	5 α androstane 3 α ol 17one ...	Androstérone	$C_{19}H_{30}O_2$
4	5 α androstane 3 β ol 17one ...	Epi-androstérone	$C_{19}H_{30}O_2$
5	5 α androstane 3one 17αol	—	$C_{19}H_{30}O_2$
6	5 α androstane 3one 17βol	—	$C_{19}H_{30}O_2$
7	5 β androstane 3 α ol 17 one ..	Etiocholanone 3α	$C_{19}H_{30}O_2$
8	5 β androstane 3 β ol 17 one ..	Etiocholanone 3β	$C_{19}H_{30}O_2$
9	Δ_4.androstene 11βol 3-17dione ..	—	$C_{19}H_{28}O_3$
10	Δ_4.androstene 11αol 3-17dione ..	—	$C_{19}H_{28}O_3$

B. — Stéroides en C_{21}

N°	Nom systématique	Nom commun	F. brute
15	Δ_4.pregnene 11βol 17α21triol — 3 — 20dione	Cortisol	$C_{21}H_{30}O_5$
16	Δ_4.pregnene 11β21diol 3-20dione.	Corticostérone	$C_{21}H_{31}O_4$
17	Δ_4.pregnene 11βol 3-20dione	—	$C_{21}H_{30}O_3$
18	Δ_4.pregnene 11αol 3-20dione	—	$C_{21}H_{30}O_3$

TABLEAU IV-2

Nomenclature des stéroïdes formés au cours de l'oxydation chromique

A. — Stéroides en C_{19}

N°	Nom systématique	Nom commun	F. brute
11	5 α androstane 3one	Androstanone	$C_{19}H_{30}H$
12	5 α androstane 3-17dione	Androstanedione	$C_{19}H_{30}O_2$
13	5 β androstane 3-17dione	Etiocholanedione	$C_{19}H_{30}O_2$
14	Δ_4.androstene 3-11-17trione	Adrénostérone	$C_{19}H_{26}O_3$

B. — Stéroides en C_{21}

N°	Nom systématique	Nom commun	F. brute
19	Δ_4.pregnene 3-11-20trione-17-21diol	Cortisone	$C_{21}H_{28}O_5$
20	Δ_4.pregnene 3-11-20trione	11céto-progestérone	$C_{21}H_{28}O_3$
21	Δ_4.pregnene 21ol 3-11trione	11déhydrocortico-stérone	$C_{21}H_{29}O_4$

— en chromatographie sur papier ou sur alumine, un hydroxyle équatorial est plus énergiquement adsorbé que son épimère axial.

— au cours d'une oxydation dans laquelle le point d'attaque est la liaison C—H, l'alcool secondaire est plus vulnérable, si le groupe hydroxyle est en position axiale,

— les éliminations surviennent plus rapidement si les atomes ou les groupements à éliminer sont en orientation trans-diaxiale,

— l'orientation équatoriale ou axiale d'un substituant se traduit très souvent sur le spectre I.R.

D'autre part, FIESER (23) a pu fournir quelques règles moins formelles, en particulier l'attaque d'un réactif se fait préférentiellement sur le côté arrière de la molécule, comme si cette molécule était protégée par les deux groupes méthyl angulaires ; en outre, l'épimérisation se fait toujours dans le sens axial → équatorial.

Les stéroïdes utilisés dans ce travail proviennent de la firme Steraloids, ou nous ont été offert par divers laboratoires de produits pharmaceutiques, en particulier Schering (U.S.A.) et Upjohn.

On retrouvera dans le tableau IV-1 la liste des 14-hydroxystéroïdes soumis à l'oxydation chromique, alors que dans le tableau IV-2 sont indiqués les composés cétoniques correspondants ; pour la commodité d'identification, un numéro a été attribué à chacun de ces corps (col. 1).

Par ailleurs, dans le tableau IV-3, ont été réunies quelques-unes des constantes physico-chimiques caractéristiques des corps étudiés, en particulier poids moléculaire, point de fusion, pouvoir rotatoire, moment dipolaire et, le cas échéant, coefficient d'absorption ($E_{cm}^{1\%}$).

Une identification, et tout particulièrement la vérification de la conformation des hydroxyles a été effectuée par spectrophotométrie infrarouge ; les spectres ont été réalisés dans notre laboratoire à l'aide d'un spectrophotomètre Perkins-Elmer n° 13. Les échantillons ont été examinés sous forme de pastille en solution solide (2 %) dans le bromure de potassium anhydre ; l'optique utilisée étant le plus habituellement celle en chlorure de sodium, sauf dans quelques cas particuliers, où des renseignements complémentaires ont été obtenus avec le prisme en fluorure de Lithium.

Les spectres obtenus ont été confrontés avec les spectres de référence publiés d'une part par W. NEUDERT et H. ROPKE - « Steroid Spectren-atlas » (Springerverlag 1965) et d'autre part par K. DOBRINER, E.R. KATZENELLENBOGEN et A. NORMAN-JONES - « Infrared absorbtion spectra of Steroids. An atlas » (Interscience Publishers. Inc., New York 1953).

TABLEAU IV-3

Propriétés physiques

A. — Stéroides en C_{19}

N°	P. Moléculaire	P. Fusion (° C)	P. Rotatoire α-D	Moment dipolaire
1	276,47	145 — 146	+ 2° Bz	1,76 Bz
2	276,47	150 — 152	+ 2° Dx	1,74 Bz
3	290,45	180 — 182	+ 98° Al	3,67 Bz
4	290,45	173 — 175	+ 92° Al	2,90 Dx
5	290,45	177 — 178	+ 10° Bz	3,75 Bz
6	290,45	177 — 182	+ 33° Ch	2,97 Bz
7	290,45	151 — 152	+ 109° Ch	—
8	290,45	151 — 153	+ 93° Ch	2,84 Bz
9	302,42	193 — 194	+ 200° Al	—
10	302,42	175 — 178	+ 183° Al	—
11	274,45	94 — 97	+ 18° Dx	2,96 Bz
12	288,43	133 — 135	+ 104° Ch	2,93 Bz
13	288,43	133 — 134	+ 109° Ch	—
14	300,42	217 — 218	+ 306° Ch	5,03 Bz

Bz, Dx, Ch, Al : Benzène, Dioxane, Chloroforme, Ethanol.

B. — Stéroides en C_{21}

N°	P. Moléculaire	P. Fusion (° C)	P. Rotatoire α-D	$E^{1\%}_{cm}$ (241)
15	362,47	212 — 213	+ 167° Al	450
16	346,47	179 — 183	+ 224° Al	482
17	330,47	177 — 180	+ 202° Ch	475
18	330,47	164 — 165	+ 182° Ch	469
19	360,46	216 — 217	+ 209° Al	441
20	328,46	182 — 184	+ 258° Al	391
21	344,45	180 — 182	+ 258° Al	462

Bz, Dx, Ch, Al : Benzène, Dioxane, Chloroforme, Ethanol.

TABLEAU IV-4

Chromatographie en couche mince

Stéroïdes en C_{19} Alumine H Système : Bz/MeOH 9,5/0,5				Stéroïdes en C_{21} Kieselgel H Système : Bz/Acétate d'éthyle/MeOH 9/0,8/0,2	
N°	R_{DHIA}	N°	R_{DHIA}	N°	R_E
1	0,44	8	0,86	15	0,85
2	0,56	9	1,15	16	1,50
3	0,90	10	1,20	17	0,50
4	1,04	11	0,60	18	0,38
5	0,66	12	1,05	19	1,00
6	0,74	13	0,95	20	0,85
7	1,20	14	1,32	21	2,10

Par ailleurs la pureté des produits a été contrôlée par chromatographie en couches minces, réalisée soit sur alumine H, soit sur Kieselgel, après activation des plaques à 130° C pendant 120'. Des quantités de l'ordre de 20 mcg ont été déposées sur les plaques (solvant $CHCl_3$/MeOH) à l'aide d'une micropipette. Les systèmes de solvants utilisés ont été entre autres : Benzène/Acétate d'éthyle/Méthanol (9/0,8/0,2) et Benzène/Méthanol (9,5/0,5), les plaques étant examinées sous lumière fluorescente avant et après révélation, les révélateurs employés en pulvérisation étant soit un mélange d'acide sulfurique/éthanol (1/5), soit pour les substances cétoniques le réactif de ZIMMERMANN (mélange extemporané à parties égales d'une solution saturée de potasse dans l'éthanol, et d'une solution à 2 % de métadinitrobenzène dans l'éthanol), la sensibilité de ces révélations variant la nature des stéroïdes de 0,5 à 3 mcg par cm^2.

Dans le tableau IV-4 sont rapportées à titre d'exemples les migrations relatives des divers stéroïdes étudiés. Pour les stéroïdes en C_{19} la migration est rapportée à celle de la déhydroépiandrostérone prise pour référence, pour les stéroïdes en C_{21} à celle de la cortisone. Testé dans au moins quatre systèmes de solvants différents, chacun des stéroïdes utilisés dans ce travail n'a donné en chromatographie qu'un seul spot à la révélation. Enfin, un dernier contrôle d'identification a été effectué en réalisant des spectres dans l'acide sulfurique concentré selon la méthode de BERNSTEIN et LENHARD (59, 60).

Depuis la publication de ZAFFARONI (61, 62), de nombreux travaux sont venus confirmer l'intérêt de l'étude des spectres dans l'acide sulfurique des stéroïdes comme moyens d'identification, de caractérisation, voire de dosage.

Ces spectres ont été réalisés en cuves de silice de 1 cm, à l'aide d'un spectrophotomètre enregistreur (10 mμ/12 secondes) Unicam S.P. 800 à partir de solution de stéroïdes (8.10^{-6} M) dans l'acide sulfurique concentré Merck (97 %) ; les solutions étant maintenues à 25° C et à l'obscurité pendant 120 minutes avant la réalisation du spectre, en conformité complète avec la technique de BERNSTEIN et LENHARD.

Dans le tableau IV-5 sont rapportées la longueur d'ondes (λ) en mμ des maxima et des minima, les valeurs entre parenthèses représentant les $E^{1\%}_{cm}$ correspondants.

Les valeurs sont en général en très bon accord avec celles publiées par BERNSTEIN et LENHARD. Dans quelques cas cependant elles sont très légèrement supérieures (0 à +6 %) à celles rapportées par ces derniers auteurs ; il convient d'indiquer à ce propos qu'avant chaque série de mesures, l'étalonnage du spectrophotomètre en longueur d'onde et en absorption a été vérifié selon les méthodes classiques et que chacune des valeurs du $E^{1\%}_{cm}$ représente la moyenne statistique d'une série d'au moins six mesures différentes.

TABLEAU IV-5

Spectres d'absorption dans SO_4H_2 concentré

A. — Stéroides en C_{19}

N°	Maxima λ : mμ (E 1% cm)	Minima λ : mμ (E 1% cm)
1	306 (195)	
2	314 (294)	
3	310 (272), 332 (190), 403 (50), 478 (10)	256 (64), 386 (30), 455 (6)
4	312 (274), 332 (190), 406 (20), 488 (16)	254 (56), 388 (28), 452 (4)
5	302 (340)	
6	304 (390)	
7	313 (290), 334 (190), 410 (42), 496 (16)	258 (72), 389 (30), 450 (6)
8	310 (288), 334 (194), 412 (36), 495 (12)	258 (60), 386 (22), 452 (8)
9	282 (478), 380 (450), 400 (252), 460 (110)	240 (160), 324 (58), 432 (80)
10	284 (484), 380 (444), 398 (258), 466 (120)	234 (152), 324 (64), 432 (74)
11	316 (350)	
12	302 (598)	252 (110)
13	302 (545)	250 (80)
14	282 (540)	230 (60)

B. — Stéroides en C_{21}

15	237 (410), 282 (436), 394 (190), 475 (200)	228 (382), 252 (294), 350 (110), 418 (146)
16	242 (182), 286 (494), 332 (242), 374 (188), 418 (52), 460 (56)	230 (158), 248 (160), 316 (215), 362 (160), 408 (50), 430 (58)
17	290 (340), 318 (224), 472 (32)	232 (90), 380 (6)
18	290 (430), 318 (260), 472 (40)	232 (106), 380 (6)
19	283 (538), 342 (212), 412 (188), 419 (190), 480 (20)	231 (152), 318 (140), 370 (78)
20	283 (500)	229 (120)
21	282 (510), 368 (80), 440 (146)	235 (120), 322 (26), 385 (30)

B - Acide acétique

Le produit utilisé est de l'acide acétique Merck (99-100 %). Il a été cependant purifié selon la méthode de Orton et Bradfield (63, 64) par distillation sur anhydride chromique (2 g/100 ml), les premières fractions étant rejetées, l'acide acétique purifié étant ensuite conservé à l'abri de la lumière en flacon rodé. L'indifférence à l'anhydride chromique du produit purifié a été vérifiée en contrôlant les variations éventuelles d'absorption d'une solution d'anhydride chromique dans l'acide acétique mesuré à 350 mμ en cuve scellée. Au bout de 48 h, toutes variations du $E^{1\%}_{cm}$ de cette solution supérieure à 1,5 % a fait considérer l'acide acétique comme impropre à l'utilisation.

C - Anhydride chromique

L'anhydride chromique utilisé est un produit Merck, pour lequel la teneur en CrO_3 titré par iodométrie est supérieure à 99,5 %. L'anhydride chromique a été conservée dans un dessicateur sous vide (P_2O_5).

D'autre part on a vérifié par spectrophotométrie l'absorption spécifique de solution d'anhydride chromique dans l'acide acétique ; le $E^{1\%}_{cm}$ s'est trouvé être de $98{,}0 \pm 0{,}68$ pour la longueur d'onde de 350 mμ.

En outre, le dosage du Cr^{VI} a été réalisé selon la méthode de Salzman (79), à la diphénylcarbazide, avec lecture à 540 mμ ($E^{1\%}_{cm} = 480 \pm 5{,}5$) ; c'est ainsi qu'on a pu réaliser, avec des solutions de concentrations différentes en Cr^{VI}, une courbe d'étalonnage parfaitement linéaire pour des prises d'essai comprises entre 2 et 50 mcg de CrO_3, cette courbe d'étalonnage devant servir ultérieurement, comme il sera vu, à la détermination de la teneur résiduelle en Cr^{VI} dans les milieux d'oxydation.

D'une manière générale, les solutions d'anhydride chromique utilisées ont été journellement préparées avant chaque détermination calorimétrique ou spectrophotométrique. Quant aux solutions de stéroïdes dans l'acide acétique, en raison de la cherté et de la rareté de quelques-uns des produits utilisés, c'est à partir de solutions-mère 12.10^{-3}M conservées au froid, que, par dilution, ont été obtenues les solutions utilisées à la concentration requise.

II. - DISPOSITIF EXPERIMENTAL

A - Appareillage microcalorimétrique

Les principales caractéristiques du Microcalorimètre E. Calvet ont été rappelées dans le chapitre I^{er} et on pourra retrouver dans diverses publications de l'Institut de Microcalorimétrie et de Thermogénèse, et tout particulièrement dans la thèse de P. Boivinet (10), les conditions exactes de manipulation de cet appareil. Aussi a-t-il paru suffisant de n'exposer ici que les conditions d'emploi particulières à ce travail.

Deux microcalorimètres différents ont été utilisés :

le premier — n° 215 — thermostaté à 20°0 C

le second — n° 217 — thermostaté à 37°0 C

Chaque calorimètre, ainsi que le dispositif d'enregistrement, était placé dans une chambre calorifugée et thermostatée à la température d'utilisation du calorimètre, la constance de température et de teneur hygrométrique étant assurée par un système de climatisation, les allées et venues dans chaque salle étant réduites au minimum indispensable.

Deux galvanomètres à miroir de marque Kip et Zonen (type A42) ont été utilisés et présentent les caractéristiques suivantes (distance miroir-enregistreur 117 cm) :

	N° 11997	N° 11998
Résistance interne	124 Ω	119,8 Ω
Sensibilité (117 cm)	$1{,}045.10^{-9}$ A	$1{,}065.10^{-9}$ A

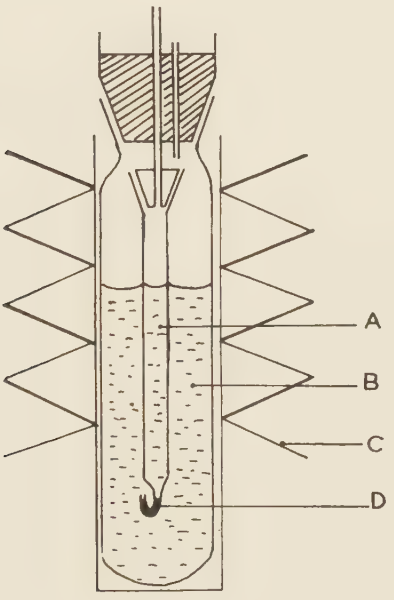
Les enregistreurs étaient des suiveurs de spot de type Sefram à plusieurs vitesses d'enregistrement ; un déroulement du papier de 300 mm/h a été le plus souvent utilisé, sauf dans le cas de réaction relativement lente pour lequel une vitesse de 60 mm/h a paru suffisante. Les vitesses de déroulement du papier ont été fréquemment vérifiées et trouvés conformes aux spécifications de l'appareil. A noter que la vitesse de déplacement du chariot (500 mm/s) et la rapidité d'équilibrage (accélération 3 m/s^2) rendent ce type d'appareil particulièrement apte à l'étude des cinétiques rapides.

Le dispositif d'injection utilisé était le suivant (fig. 1) :

— cellule laboratoire en verre de 17 mm de diamètre, contenant 9 ml de la solution oxydante,

— une ampoule à pointe recourbée et à garde de mercure contenant 1 ml de la solution à oxyder,

— la vidange de l'ampoule étant assurée par l'injection de 1,5 ml d'air à l'aide d'une seringue.



— MONTAGE CALORIMÉTRIQUE UTILISÉ

A : SOLUTION à OXYDER
B : SOLUTION OXYDANTE
C : THERMOCOUPLES
D : MERCURE

Figure I. —

Il a été vérifié d'une part que la chute de la goutte de mercure dans les 9 ml de solution sous-jacente ne produisait aucun effet thermique appréciable, et d'autre part que l'injection de 1,5 ml d'air ne produisait pas de perturbation thermique, les seringues utilisées à cet effet étant en permanence conservées dans le box thermostaté.

Dans quelques cas (réactions rapides), un mouvement de va-et-vient de la tige portant l'ampoule a pu être effectué pour assurer un mélange plus rapide des deux solutions. Cependant pour chaque série d'expériences on a préalablement vérifié la vitesse de mélange de 1 ml d'une solution de stérol de concentration identique à celle utilisée pour l'étude de l'oxydation dans 9 ml d'acide acétique, et cela sans agitation et dans des conditions d'injection strictement identiques à celles suivies pour étudier la réaction d'oxydation. On constate que dans le cas le plus défavorable la dilution du stéroïde dans l'acide acétique peut être considérée comme terminée au bout de 1.000 s.

Les solutions de stéroïde et d'anhydride acétique étaient préparées extemporanément ; ampoule et cellule une fois remplies, le dispositif était placé en attente dans le calorimètre, une période de stabilisation de 8 h étant considérée comme le minimum indispensable avant le déclanchement de l'expérience.

L'expérience une fois lancée, ce n'est qu'après un retour au zéro expérimental initial d'au moins une heure que l'expérience était considérée comme terminée, la cellule laboratoire étant alors retirée du calorimètre et son contenu prélevé pour être soumis à différentes déterminations et en particulier vérification de la disparition du Chrome^{VI} et de l'hydroxystéroïde initial et caractérisation des substances cétoniques néo-formées.

Pour chaque corps étudié, plusieurs expériences ont été réalisées, au minimum cinq pour chaque concentration différente en réactifs ; les microcalorimètres utilisés possédant 4 cellules, chacune de ces cellules a été utilisée, et cela pour tenir compte des éventuelles différences de sensibilité entre chaque élément calorimétrique.

Chaque termogramme a été corrigé graphiquement selon la méthode de Calvet-Camia (cf. chap. I). C'est à partir d'un nombre minimum de 20 points pris sur la courbe initiale que, dans un premier temps, la courbe intermédiaire (1re correction) a été tracée ; celle une fois obtenue, c'est dans les mêmes conditions que la courbe de thermocinétique (2^{e} correction) a pu être obtenue. Dans quelques cas le thermogramme a été retracé à plus grande échelle afin de faciliter le tracé des tangentes.

Une expérience préliminaire ayant permis de fixer la durée des phénomènes initiaux de dilution, c'est-à-dire en fait d'apprécier le moment à partir duquel ils peuvent être considérés comme négligeables, c'est au-delà de ce temps limite que la courbe de thermocinétique représente convenablement le phénomène réactionnel (cf. chap. I), c'est alors que sont lues sur la courbe de thermocinétique les ordonnées W correspondant à des intervalles de temps égaux, intervalles de temps pouvant varier de 60 à 300 secondes, suivant la vitesse apparente de la réaction étudiée ; douze

valeurs de la puissance W sont ainsi déterminées ; il en est fait de même sur un minimum de 5 autres courbes correspondant à la même réaction ; il est ainsi possible d'obtenir une valeur moyenne pour chaque ordonnée W correspondant au même temps t. C'est à partir de ces 12 valeurs moyennes de W qu'il va être procédé à la détermination des paramètres cinétiques de la réaction suivant la technique exposée dans le chapitre II (tableaux 1, 2, 3, 4, 5).

Mais l'obtention de la courbe de thermocinétique nécessite impérativement la connaissance des constantes de temps relatives au microcalorimètre et au dispositif expérimental utilisé, ainsi que la réalisation dans les meilleures conditions possibles, d'un étalonnage en sensibilité.

1 - Détermination des constantes de temps

L'obtention des constantes de temps dans le microcalorimètre E. Calvet en vue de la correction des thermogrammes se fait classiquement par décomposition d'une courbe balistique provenant d'une impulsion thermique au sein de la cellule laboratoire. Cependant, toute modification expérimentale (changement de « géométrie thermique ») entraîne une variation des valeurs de ces constantes. Pour obtenir des résultats valables, il est donc impératif de laisser en place conjointement pendant tout le temps des mesures le dispositif d'étalonnage et le matériel étudié. Il est donc impossible d'appliquer la méthode classique lorsque cette condition ne peut être réalisée.

C'est pourquoi nous avons proposé avec F.-M Camia et R. Roux (14) de recourir à un effet Peltier ou à tout autre moyen de chauffage qui crée un déséquilibre thermique par apport extérieur de chaleur à la cellule laboratoire déjà disposée pour l'expérience. C'est ainsi que, tout étant en place pour suivre la réaction d'oxydation, un réchauffement périphérique de la cellule laboratoire est produit en envoyant un courant électrique dans la série de thermocouples radiaux initialement prévue pour assurer la compensation par effet Peltier, et cela pendant un temps suffisamment long pour que le régime permanent soit atteint ; le courant ayant été ensuite interrompu, c'est à partir de la courbe de refroidissement que pourra être mené à bien le calcul des constantes de temps τ.

En effet on sait qu'un thermogramme peut s'exprimer par une série d'exponentielle de temps dont la forme :

$$\Delta = A\,\Phi = a_1 e^{-t/\tau_1} + a_2 e^{-t/\tau_2} + a_3 e^{-t/\tau_3} + \ldots \qquad (1)$$

Δ étant l'ordonnée du thermogramme τ_1, τ_2 τ_3, les différentes constantes de temps de l'appareil qui caractérisent l'inertie de la transmission. Au bout d'un temps suffisant, Δ peut s'exprimer par une seule exponentielle :

$$\Delta_1 = A\,\Phi = a_1 e^{-t/\tau_1} \qquad (2)$$

TABLEAU IV-6

Détermination des constantes de temps

Calorimètre 217II — Moyenne sensibilité — 37° C
Système réactionnel en place : Epiandrostérone 6 micromoles
CrO_3 : 4 micromoles
Acide acétique : 10 ml

A. — Constante de temps : τ_1

t	Δ	$\Delta n/\Delta n+1$	e^{-t/τ_1}	Δ_1	$\Delta_1 - \Delta_1$
0	87,5		1,000	48,8	38,7
12	80,8	1,082	0,967	47,2	33,6
24	71,0	1,138	0,935	43,6	25,4
36	63,2	1,123	0,905	44,2	19,0
48	55,7	1,134	0,875	42,7	13,0
60	50,7	1,098	0,846	41,3	9,4
72	47,4	1,069	0,819	40,0	7,4
84	44,5	1,065	0,792	38,6	5,9
96	42,2	1,054	0,766	37,4	4,8
108	40,1	1,052	0,741	36,2	3,9
120	38,3	1,046	0,717	35,1	3,2
180	30,8	1,243	0,606	29,6	1,2
240	25,4	1,212	0,513	25,1	0,3
300	21,1	1,203	0,413	21,2	— 0,1
360	17,8	1,185	0,367	17,9	— 0,1
420	15,2	1,171	0,310	15,1	+ 0,1
480	12,8	1,187	0,264	12,9	— 0,1
540	10,8	1,185	0,223	10,6	— 0,1
600	9,2	1,174	0,188	9,2	0
660	7,8	1,179	0,160	7,8	0
720	6,6	1,182	0,135	6,6	0
780	5,6	1,178	0,114	5,6	0

— t : secondes.
— τ_1 : 365 secondes.

B. — Constante de temps : τ_2

t	$\Delta - \Delta_1$	$\frac{(\Delta-\Delta_1)_n}{(\Delta-\Delta_1)_{n+1}}$	e^{-t/τ_2}	Δ_2	$\Delta-(\Delta_1+\Delta_2)$
0	38,7		1,000	23,7	15,0
12	33,6	1,152	0,818	19,4	14,2
24	25,4	1,323	0,670	15,9	9,5
36	19,0	1,337	0,548	13,0	6
48	13,0	1,461	0,447	10,6	2,4
60	9,4	1,383	0,367	8,7	0,7
72	7,4	1,270	0,299	7,1	0,3
84	5,9	1,254	0,249	5,9	0
96	4,8	1,229	0,202	4,8	0
108	3,9	1,231	0,164	3,9	0
120	3,2	1,219	0,135	3,2	0
132	2,6	1,231	0,109	2,6	0
144	2,1	1,238	0,088	2,1	0
156	1,75	1,200	0,073	1,75	0
168	1,45	1,207	0,060	1,44	+ 0,01
180	1,20	1,208	0,051	1,2	0

— t : secondes.
— τ_2 : 60 secondes.

Or, on sait que si Δt est un intervalle de temps constant, on peut écrire pour 2 valeurs successives de Δ_1, Δ_n et Δ_{n+1} (3) :

$$\tau = \frac{\Delta t}{\log(\frac{\Delta_n}{\Delta_{n+1}})}$$

τ étant ainsi déterminé, il est possible d'obtenir a_1, d'où de retracer complètement la courbe Δ_1.

On forme ensuite :

$$\Delta - \Delta_1 = a_2 e^{-t/\tau_2} + a_3 e^{-t/\tau_3} = \Delta_2 + \Delta_3 + \ldots \quad (4)$$

La courbe $\Delta - \Delta_1$, lorsque t augmente, tend elle-même vers une exponentielle pure Δ_2, d'où la possibilité d'obtenir a_2 et τ_2, ce qui permet ensuite de construire la courbe $\Delta - (\Delta_1 + \Delta_2)$ et ainsi de suite.

Dans le tableau IV-6 est rapporté un exemple de détermination des constantes de temps suivant cette méthode ; constantes de temps relatives au calorimètre 217 (37° C), le système réactionnel en place étant : épiandrostérone 6 micromoles, CrO_3 4 micromoles, acide acétique 10 ml. Tout calcul fait, il est possible d'obtenir les valeurs suivantes (risque d'erreur P = 0,05) :

	τ_1	τ_2
Moyenne	362,37 s.	60,43 s.
Erreur type σ_m	3,90	1,26
t.σm	13,65	4,41

Dans les mêmes conditions expérimentales, la détermination des constantes de temps de l'ensemble 215 (20° C) a conduit aux valeurs suivantes :

	τ_1	τ_2
Moyenne	418 s.	68 s.
Erreur type σ_m	4,10	0,98
t.σm	14,35	3,46

Les déterminations des constantes de temps ont été réalisées avec tous les systèmes réactionnels étudiés dans ce travail ; il n'a pas été trouvé de différence significative suivant la nature du stéroïde ; en effet, en raison des très faibles concentrations utilisées, de l'ordre de 6.10^{-4} $M.L^{-1}$, des modifications de la capacité thermique du contenu de la cellule laboratoire ne peuvent raisonnablement survenir.

En définitive, les valeurs suivantes des constantes de temps ont été adoptées pour la correction des thermogrammes : calorimètre 215 $\tau_1 = 420s, \tau_2 = 70s$, calorimètre 217 $\tau_1 = 360s, \tau_2 = 60s$.

2 - Etalonnage en sensibilité

$$(\sigma = \text{mm.cal}^{-1}.\text{h}^{-1}.)$$

L'étalonnage en sensibilité des microcalorimètres a été réalisé selon la méthode classique (Boivinet) en produisant un effet Joule à l'intérieur de la cellule laboratoire.

On a vu (chap. I) qu'en régime permanent, la sensibilité du microcalorimètre peut être définie par :

$$\sigma = \frac{\Delta}{W.3.600} \qquad (5)$$

Δ étant l'ordonnée en mm du palier strictement parallèle au zéro expérimental obtenu lorsqu'une puissance constante W(cal) est produite pendant un temps suffisant à l'intérieur de la cellule laboratoire. D'autre part, si S est la surface en mm^2 du thermogramme obtenu, si v est la vitesse d'enregistrement en mm/h, si la puissance W a produit pendant un temps t un effet Joule de q.cal., on peut écrire :

$$\sigma = \frac{S}{q.v} \qquad (6)$$

Il est donc possible, à partir d'un temps de chauffage quelconque de calculer la sensibilité du microcalorimètre.

Dans l'absolu, un étalonnage correct du microcalorimètre en sensibilité supposerait la possibilité de produire un effet thermique dans la cellule laboratoire avec une puissance aussi analogue que possible à celle du phénomène étudié et surtout présentant la même loi de variation. En effet, d'après la plupart des utilisateurs, certaines discordances se font jour entre la détermination des sensibilités du microcalorimètre par l'étalonnage en déviation classique et l'étalonnage à partir de thermogramme semi-balistique, sans qu'en l'état actuel aucune explication satisfaisante n'ait été apportée à ces anomalies.

Tout bien pesé, en raison de la vitesse apparente des réactions étudiées, et sans pour autant considérer que cela puisse être une solution idéale, la détermination des sensibilités utilisées dans ce travail a été réalisée à partir d'effets thermiques assez brefs, d'une durée maximum de 1.800 s. et en utilisant la relation (6). C'est ainsi que, par exemple, l'étalonnage du microcalorimètre 217, cellule 3, petite sensibilité, a été réalisé par effet Joule dans les conditions suivantes :

$$R = 2.029\ \Omega$$

$$U = 0{,}84075\ V$$

$$W = 0{,}34838.10^{-3}w.$$

$t = 1.200$ secondes
$q = 0{,}09986$ cal.
$v = 300$ mm/h
$S = 3.061$ mm^2

la sensibilité trouvée est donc de 102, 176 mm.cal^{-1}.h^{-1}.

Il convient de noter que par l'emploi de méthode d'opposition la résistance R et la tension U, utilisées pour produire l'effet Joule, sont connues avec une grande précision. La surface S du thermogramme a été obtenue par planimétrie, et 5 mesures consécutives du même thermogramme par des observations différentes avec le même planimètre, ont conduit aux valeurs suivantes :

3.067, 3.065, 3.061, 3.054, 3.058 mm^2,

ce qui, tout calcul fait, conduit à une moyenne de 3.061, une erreur type de 2.345, et une incertitude sur la surface de 0,213 %. On peut, en définitive, estimer à bon droit que les sensibilités sont connues avec une erreur maximum de 0,5 %.

En conclusion, les microcalorimètres utilisés dans ce travail possédaient le registre suivant de sensibilité (mm.cal.h^{-1}).

	Microcalorimètre 215			Microcalorimètre 217		
	PS	MS	GS	PS	MS	GS
Cellule n° 1	77,2	137,4	230,4	100,2	155,6	172,7
Cellule n° 2	72,4	133,3	253,0	90,1	117,6	131,9
Cellule n° 3	74,5	132,4	220,2	102,2	156,1	172,5
Cellule n° 4	72,1	130,6	253,9	86,4	113,0	128,2

B - Appareillage spectrophotométrique

Les solutions d'anhydride chromique dans l'acide acétique présentent un maximum d'absorption à 350 mμ, maximum spécifiquement attribuable à la présence de Cr^{VI}. Il est donc possible de suivre le cours de la réaction d'oxydation en enregistrant en continu à longueur d'onde fixe (350 mμ) les variations de densité optique du système réactionnel étudié.

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre enregistreur Unicam SP 800 à doubles faisceaux et à compartiment de cuve thermostaté. Cet appareil présente entre autres les caractéristiques suivantes :

— le monochromateur de type Littrov est maintenu à température constante 37-38° C par un dispositif thermostatique ;

— l'enregistrement se fait par déplacement simultané d'un stylet (temps de réponse inférieur à une seconde) et d'un chariot porteur du

papier d'enregistrement. Le déplacement du chariot est soit synchronisé avec le balayage de la longueur d'onde (tracé des spectres), soit commandé par des moteurs auxiliaires (tracé à longueur d'onde fixe) ;

— le papier spécial d'enregistrement utilisé pour les travaux cinétiques, présente en abscisse 120 divisions (1 div. = 1/10 pouce) et en ordonnée il est gradué en densité optique de 0 à 2, une division de 1,5 mm correspondant à 0,02 unité de densité optique ;

— suivant le moteur auxiliaire choisi, le déplacement total du chariot peut se faire en 10, 20, 30 et 60 minutes, chaque division de papier enregistreur correspondant alors à 5, 10, 15 ou 30 secondes. Il a d'ailleurs été possible d'utiliser un moteur à vitesse plus grande et ainsi d'atteindre une vitesse d'une seconde par division. Les vitesses de déplacement ont été fréquemment contrôlées à l'aide d'un chronomètre et ont été trouvées conformes aux spécifications des constructeurs ;

— les longueurs d'onde sont connues avec les précisions suivantes, variables suivant la région du spectre :

200 mμ ± 0,4
250 mμ ± 0,4
350 mμ ± 0,7
500 mμ ± 1,9

L'étalonnage en longueur d'onde a été fréquemment vérifié en utilisant les filtres de référence en Holmium et en Didyme ;

— la précision du dispositif de photométrie a été contrôlée en recherchant l'absorption d'une solution étalon de dichromate de potassium dans l'acide sulfurique N/100, qui, on le sait, présente les valeurs théoriques de $E^{1\%}_{cm}$.

Maxima		Minima	
λ	$E^{1\%}_{cm}$	λ	$E^{1\%}_{cm}$
257 mμ	148,333	235 mμ	124,583
350 mμ	107,333	313 mμ	48,666

Par rapport à ces valeurs théoriques, il n'a pas été trouvé de variation supérieure à 0,8 % ;

— l'équilibrage des faisceaux a été vérifié par la linéarité du zéro au cours d'un enregistrement à vide.

Des cuves en silice à bouchons rodés ont été utilisées au cours de ce travail, elles présentaient un passage optique de 10 mm, avec une tolérance de 0,02 mm.

Chaque mesure comportant l'utilisation d'une cuve témoin et d'une cuve échantillon, on a d'abord procédé à leur appariement. Pour cela les cuves ont été remplies d'acide acétique et placées l'une sur le trajet du faisceau de référence, l'autre sur le faisceau « échantillon ». Un enregistrement a été fait et une ligne horizontale de zéro obtenue ; après permutation des cuves, la même opération a été effectuée, la ligne de base retrouvée devant se confondre avec le zéro antérieur. Ce test a permis de choisir sur un lot de 12 cuves, 9 cuves parfaitement identiques.

La constance de température du compartiment porte-cuves était assurée par un ultrathermostat à circulation de marque Colora, extérieur à l'appareil de mesure et qui normalement assure une régulation de température avec une précision de 0,02° C. Il a pu être estimé qu'en réalité la constance de température dans le montage utilisé était de 0,1° C.

La salle dans laquelle se déroulaient toutes les manipulations (préparation d'échantillon et spectrophotométrie) était maintenue à une température moyenne de 18° C par un dispositif de climatisation.

Du point de vue pratique, le protocole suivant a été observé :

1° les solutions de stérols et d'anhydride chromique ont été préparées extemporanément,

2° la solution oxydante (9 ml) et la solution de stérol (1 ml) disposée dans des tubes à essai à bouchons rodés ont été placées pendant 60' dans la cuvette de l'ultrathermostat Colora réglé à la température choisie, soit 20°,0, ou 37°,0 C,

3° 90' après la mise en chauffe du spectrophotomètre, le zéro expérimental a été établi en utilisant les cuves qui plus tard vont servir dans la deuxième étape de la manipulation. Une des deux cuves emplie avec une solution de stérol de concentration identique à celle devant servir à la réaction d'oxydation, a été placée sur le trajet du faisceau de référence, dans le porte-cuve thermostaté. L'autre cuve destinée à recevoir le système réactionnel a été placée en attente dans la cuvette de l'ultrathermostat,

4° la solution oxydante (9 ml) a été très rapidement mélangée avec la solution de stérol (1 ml), un chronomètre était déclenché dès le début de l'opération (temps zéro). Le mélange réactionnel a été ensuite placé dans la cuve vide, elle-même très rapidement disposée dans le compartiment des cuves. L'enregistrement a débuté 10" très exactement après le

TABLEAU IV-7

Equations de vitesse intégrées

Ordre global	Ordres partiels :		
n	m	p	
2	1	1	$b > sa \quad kt = \frac{2,3}{b-sa} \log \frac{a(b-sx)}{b(a-x)}$ $b = sa \quad kt = \frac{1}{s}\left(\frac{1}{a-x} - \frac{1}{a}\right)$
2	3/2	1/2	$b > sa \quad kt = \frac{2}{b-sa}\left[\frac{b-sx}{a-x}\right]^{1/2}$ $b = sa \quad kt = s^{\frac{1}{2}}\,(a-x)^{-1}$
2	1/2	3/2	$b > sa \quad kt = \frac{2}{b-sa}\left(\frac{a-x}{b-sx}\right)^{1/2}$ $b = sa \quad kt = [s^{3/2}(a-x)]^{-1}$
3/2	1/2	1	$b > sa \quad kt = 2[s(b-sa)]^{-1/2}.\,\text{arc tg}\left(\frac{a-x}{b/s-a}\right)^{1/2}$ $b = sa \quad kt = 2[s(a-x)^{1/2}]^{-1}$
3/2	−1/2	2	$b > sa \quad kt = \frac{1}{s}\left[\frac{(a-x)^{1/2}}{b-sx} - [s(b-sx)]^{-1/2}\,\text{arc tg}\left(\frac{a-x}{\frac{b}{s}-x}\right)^{-1/2}\right]$ $b = sa \quad kt = 2.s^{-2}.(a-x)^{-1/2}$
1	3/2	−1/2	$b > sa \quad kt = 2\left(\left(\frac{b-sx}{a-x}\right)^{1/2} - s^{1/2}.\log\left[\left(\frac{b-sx}{b-sa}\right)^{1/2} + \left(\frac{a-x}{b/s-x}\right)^{1/2}\right]\right)$ $b = sa \quad kt = s^{-1/2}(a-x)^{-1}$
1	−1/2	3/2	$b > sa \quad kt = \frac{2}{s}\left(\left(\frac{a-x}{b-sx}\right)^{1/2} - s^{-1/2}\log\left[\left(\frac{b-sx}{b-sa}\right)^{1/2} + \left(\frac{a-x}{b/s-x}\right)^{1/2}\right]\right)$ $b = sa \quad kt = s^{-3/2}.\log\frac{a}{a-x}$

début de l'opération de mélange. A vrai dire, ces dernières manipulations ont pu être réalisées en 5 à 6" maximum, mais il a été jugé préférable d'observer un temps de latence constant de 10 secondes.

A partir de l'enregistrement obtenu (variation de la densité optique en fonction du temps) la concentration résiduelle en Cr^{VI} peut être très facilement obtenue.

L'utilisation des relations classiques concentration/temps, et en particulier l'emploi de la méthode dite d'intégration, permet de vérifier l'ordre et d'obtenir la constante de vitesse. Il convient de rappeler à ce propos que lorsque les réactifs sont employés en proportion stoechiométrique (les ordres partiels étant égaux), on a la relation générale :

$$k_n = \frac{1}{(n-1)(t_2 - t_1)} \left[\frac{1}{(a - x_2)^{n-1}} - \frac{1}{(a - x_1)^{n-1}} \right] \quad (7)$$

valable lorsque l'ordre n est différent de 1 ; dans ce dernier cas on a :

$$k_1 = \frac{2{,}3}{t_2 - t_1} \log(a - x_1)(a - x_2) \quad (8)$$

D'une manière plus générale encore et en tenant compte du coefficient stoechiométrique s, on peut écrire :

$$V_a = k_a (a - x)^m (b - sx)^p \quad (9)$$

V_a et k_a représentant respectivement la vitesse et la constante de vitesse par rapport au corps a, m et p les ordres partiels. Il est alors possible d'établir les équations de vitesse intégrées correspondant à différentes valeurs des ordres partiels m et p. On retrouvera dans le tableau IV-7 ces diverses relations pour les cas stoechiométriques et non stoechiométriques. En dehors de la relation classique pour l'ordre 2, les autres équations originales rapportées ici nous ont été communiquées par M. R. Cazenave, Docteur ès Mathématiques, Ingénieur E.S.E., que nous tenons à particulièrement remercier.

En définitive, la mesure spectrophotométrique de l'utilisation du Cr^{VI} dans les conditions expérimentales ci-dessus définies permet avec une relative facilité et en utilisant directement les relations concentration/temps, la détermination des paramètres cinétiques de la réaction étudiée.

III. - PRODUITS DE LA REACTION

L'oxydation par l'anhydride chromique dans les conditions expérimentales choisies de l'hydroxyle secondaire des stéroïdes, conduit à l'apparition d'un groupement cétonique correspondant.

Le problème à résoudre est donc de pouvoir déterminer dans le milieu réactionnel la nature et la teneur des produits formés, et de contrôler la disparition du stade initial ainsi que celle du Cr^{VI}.

A - Détermination des stéroides

D'une manière générale, la difficulté essentielle réside en l'absence, dans la plupart des cas, de réaction spécifique pour chaque stéroïde étudié. Les seules réactions disponibles dépendent de la présence d'un groupement caractéristique dans la molécule et ne peuvent, en conséquence, être mises en œuvre qu'après fractionnement chromatographique et isolement du produit à déterminer. Dans ce travail ont été utilisées, suivant la nature du stéroïde à doser, une ou plusieurs des réactions suivantes :

Groupement	Réaction
17 C=O	Métadinitrobenzène (MDB)
3 ou 20 C=O	Dinitrophénylhydrazine (DNPH)
—C(=O)—CH_2OH	Bleu de tétrazolium (BTZ)
C(=O)—C(OH)(=O)—CH_2OH	Phénylhydrazine (PH)
Δ_4—3C=O	Spectre UV

La réaction dans l'acide sulfurique de Bernstein et Lenhard (tableau IV-5), si elle donne un spectre caractéristique pour chaque corps, nécessite elle aussi, un isolement préalable du produit à doser.

Le protocole suivant a été adopté pour ces diverses réactions :

a) *Réaction au métadinitrobenzène* (65, 66, 67)

— *Réactifs :*

1° Métadinitrobenzène Merck, recristallisé dans l'alcool.

2° Ethanol 95°, purifié sur DNPH, et sur ALUMINE, puis redistillé.

3° KOH en pastilles.

— solution de MDB à 1 % dans l'éthanol.

— solution de KOH 4N dans l'éthanol.

— *Méthode :*

— extrait sec contenant de 1 à 50 mcg de stérol,
+ 0,2 ml d'éthanol
+ 0,2 ml solution MDB
+ 0,2 ml solution éthanolique de KOH.

— laisser 18 h à +4° C à l'obscurité ; au bout de ce temps, ajouter 3 ml d'éthanol ; laisser stabiliser à la température de laboratoire ; lire à 520 mμ.

b) *Réaction à la dinitrophénylhydrazine :* méthode de Gornall-Mac Donald (68)

— *Réactifs :*

1° HCl (d = 1,19).

2° Méthanol, purifié sur DNPH et redistillé.

3° 2 - 4 dinitrophénylhydrazine.

4° NaOH pastilles.

— solution extemporanée de DNPH à raison de 100 mg dans 100 ml du mélange HCl/MeOH (1/3 en volume).

— solution de NaOH 4N dans le méthanol.

— *Méthode :*

— extrait sec (1 à 20 mcg de stérol)
+ 0,5 ml de méthanol
+ 0,5 ml de solution de DNPH

— placer à l'obscurité à 59° C pendant 90 minutes ; porter dans un bain de glace et ajouter 0,5 ml de solution sodique et 5 ml de méthanol. Agiter et laisser ensuite 30 minutes à l'obscurité et à la température du laboratoire ; lire à 475 mμ.

c) *Réaction au bleu de tétrazolium* (méthode de Madder et Buck (72)

— *Réactifs :*

1° bleu de tétrazolium (BDH)

2° éthanol purifié (v. supra)

3° NaOH en pastilles.

— solution de BTZ à 0,5 % dans l'éthanol

— solution 2,5N de soude dans l'éthanol.

— *Méthode :*

— extrait sec (5 à 50 mcg de stéroïdes
+ 1 ml de solution sodique
+ 1 ml de solution BTZ

— laisser 40 minutes à l'obscurité, et à la température du laboratoire; ajouter 6 ml d'éthanol E ; lire à 540 mμ.

d) *Réaction à la phénylhydrazine* (méthode de PORTER et SILBER) (69, 70)

— *Réactifs :*

1° Acide sulfurique concentré Merck.

2° Eau permutée.

3° Phénylhydrazine Chlorhydrate Merck (recristallisé).

4° Ethanol purifié (95°).

Solution A :	Acide sulfurique	310 ml
	Eau permutée	190 ml
Solution B :	Phénylhydrazine HCl	24 mg
	Solution A	15 ml
	Ethanol	10 ml
Solution C :	Solution A	15 ml
	Ethanol	10 ml

Tous ces réactifs sont préparés extemporanément.

— *Méthode :*

— Extrait sec (0,5 à 20 mcg de stéroïde)
+ 2 ml solution B

— laisser 24 h à l'obscurité et à la température du laboratoire ; ajouter ensuite 2 ml de réactif C ; la lecture sera réalisée contre un blanc constitué par :

— extrait sec + 2 ml solution C

— attendre 24 h et ajouter 2 ml solution C, ceci pour éliminer les chromogènes non spécifiques pouvant être produits par l'acide sulfurique concentré. Lecture à 420 mμ.

On retrouvera dans le tableau IV-8, les coefficients d'absorption ($E^{1\%}_{cm}$) retrouvés, pour ces diverses réactions, pour chacun des stéroïdes envisagés dans cette étude.

D'autre part, les stéroïdes à doser sont extraits du milieu réactionnel dans les conditions suivantes :

— le milieu réactionnel (10 ml) est additionné de 50 ml d'eau permutée et extrait par 4 fois 1/2 le volume des mélanges suivants :

— éther de pétrole/chloroforme (3/1) : stéroïdes en C_{19} et 21 méthylstéroïdes,

— chloroforme/acétate d'éthyle (9/1) : 21 hydroxystéroïdes.

— les phases organiques réunies sont extraites par 50 ml de soude

TABLEAU IV-8

Réactions colorées des stéroïdes

$E^{1\%}_{cm}$

A. — Stéroïdes en C_{19}

N°	M D B	SO_4H_2	N°	M D B	SO_4H_2
1	—	195 ± 3,5	8	500 ± 7,1	—
2	—	294 ± 4,8	9	518 ± 6,3	—
3	520 ± 9,4	272 ± 5,1	10	532 ± 8,0	—
4	495 ± 9,1	274 ± 4,9	11	—	350 ± 4,1
5	—	340 ± 3,8	12	523 ± 8,7	598 ± 7,8
6	—	390 ± 3,2	13	545 ± 11,5	545 ± 8,3
7	539 ± 10,5	290 ± 1,9	14	510 ± 7,3	540 ± 6,1

B. — Stéroïdes en C_{21}

N°	DNPH	SO_4H_2	P.H	BTZ
15	780 ± 11,6	436 ± 8,1	620 ± 5,1	270 ± 5,9
16	810 ± 7,3	494 ± 6,9	—	266 ± 6,3
17	380 ± 7,1	340 ± 7,7	—	—
18	435 ± 6,4	430 ± 6,4	—	—
19	830 ± 11,3	538 ± 8,7	580 ± 4,3	274,4 ± 3,1
20	480 ± 7,5	500 ± 4,5	—	—
21	840 ± 10,6	510 ± 7,6	—	278,4 ± 4,1

aqueuse 4N, puis par 50 ml d'eau ; après séchage sur sulfate de soude anhydre, elles sont évaporées à sec, sous vide et sous courant d'azote, en ne dépassant pas la température de 40° C.

— l'extrait sec ainsi obtenu est alors fractionné soit par chromatographie de partage sur papier, soit par chromatographie en couches minces.

1 - *Chromatographie sur papier* (74)

Le papier utilisé est en général le papier Watman n° 1 préparé de la façon suivante : on découpe le papier Whatman n° 1 en feuilles rectangulaires de 54/20 cm. On trace au crayon graphite 10 lignes dans le sens de la longueur du papier de manière à obtenir 5 bandes de 3 cm de large séparées les unes des autres par un espace de 1 cm, le tout sur une longueur de 45 cm. Ces bandes sont solidarisées par les 9 cm restant à leur partie supérieure. On découpe le papier le long des lignes verticales. On trace une double ligne dans le sens de la largeur, délimitant un espace de 2 mm, à la partie supérieure des bandes. C'est à ce niveau que sera déposé l'extrait à chromatographier. L'extrémité libre de chaque bande sera découpée en pointe. En accord avec de nombreux auteurs le papier ne sera pas lavé au préalable, les résultats avec du papier non lavé étant identiques à ceux obtenus après purification. En revanche, il est indispensable de préparer les chromatogrammes dans le sens du laminage du papier ; ce sens est indiqué par le fabricant.

Une partie aliquote d'extrait sec correspondant à 25 mcg de produit est repris par 0,5 ml d'un mélange chloroforme/éthanol à parties égales, et déposé sur le papier à l'aide d'une pipette à bout recourbé pour ne pas déchirer le papier. Le dépôt est fait sous forme linéaire (1 à 2 mm de large), et sous courant d'azote, ce qui permet une évaporation rapide du solvant. Sur les bandes adjacentes sont déposées dans les mêmes conditions les stéroïdes étalons, c'est-à-dire en l'occurrence, d'une part l'hydroxystéroïde sur lequel a été réalisée l'oxydation et, d'autre part, le cétostéroïde éventuellement produit au cours de l'oxydation.

Les cuves à chromatographie utilisées sont des cuves parallélipipédiques de type Pachrom disposées dans une enceinte de température constante (23° C). Elles ont 70 cm de haut, sont fermées hermétiquement, et possèdent à la partie supérieure une augette en acier Inox, à bords inclinés et à ouverture supérieure ; la contention du papier dans l'augette est réalisée, soit par une baguette de verre, soit au moyen de deux plaques de verre de 2 mm d'épaisseur et de 5 cm de large sur 25 cm de long, entre lesquelles le papier est disposé.

Les systèmes utilisés sont soit du type Bush (76, 77, 78), soit du type Zaffaroni (75) :

A - *Type Bush*

	A	B_1	B_5
Eau	100	150	250
Méthanol	400	350	250
Hexane	500	250	—
Benzène	—	250	500

Dans ce cas, les différents solvants sont mélangés dans une ampoule à décanter et après agitation, laissés au repos, la phase supérieure constituant alors la phase mobile, la partie inférieure la phase stationnaire.

B - *Type Zaffaroni*

Phase stationnaire : propylèneglycol/méthanol (15/85).

Phase mobile : Cyclohexane/chloroforme (1/1).

La substance à chromatographier étant déposée sur le papier, celui-ci est imprégné de phase stationnaire (l'excès de phase étant enlevée par expression entre 2 feuilles de papier filtre).

Par ailleurs, les cuves ont été saturées auparavant par les vapeurs de phases stationnaire et de phase mobile, en disposant respectivement dans deux béchers placés au fond de la cuve, un volume de chacune d'entre elles.

Le papier est installé dans la cuve et exposé pendant 5 ou 6 h aux vapeurs de ces différents solvants. Au bout de ce temps, la phase mobile est disposée dans l'augette supérieure et la chromatographie commence.

TABLEAU IV-9

Chromatographie sur papier

Stéroïdes en C_{19} Système Eau/MeOH/Hexane 1 4 5				Stéroïdes en C_{21} Système PG/MeOH (15-85) Cy/Ch (1-1)	
N°	R_3	N°	R_3	N°	R_E
1	1,82	8	0,82	15	0,25
2	1,70	9	0,12	16	2,10
3	1,00	10	0,08	17	1,20
4	0,72	11	2,10	18	3,10
5	0,33	12	1,4	19	1,00
6	0,44	13	1,42	20	3,95
7	0,62	14	1,12	21	3,55

Après séchage du papier les révélations sont réalisées par pulvérisations soit du réactif de Zimmermann, soit du réactif phosphomolybdique, soit d'un réactif constitué par 1 ml d'acide sulfurique concentrée diluée dans 100 ml d'éthanol. On retrouvera dans le tableau IV-9 quelques exemples de Rf suivant le système employé.

Lorsqu'on veut procéder aux dosages des substances, on dispose sur une bande supplémentaire une partie aliquote de l'extrait à tester ; dans ce cas, le répérage des spots est fait soit directement par fluorescence, soit par rapport aux spots révélés sur les bandes adjacentes. Une fois les spots repérés, la zone correspondante de papier est découpée en petits fragments; ces fragments sont placés dans un tube à essai et élués par plusieurs fractions de 5 ml d'un mélange chloroforme/méthanol (1/1). L'éluat est évaporé à sec, sous vide et sous azote, et on procède aux dosages selon une des techniques proposées ci-dessus. Dans ce cas, des quantités différentes de la substance à doser auront été traitées dans les mêmes conditions (chromatographie, élution, etc.) et vont servir à l'établissement d'une courbe étalon, et cela pour essayer dans la mesure du possible, de tenir compte des pertes absolument inévitables dans ce type de dosage.

2 - *Chromatographie en couches minces*

Les conditions de réalisation ont déjà été précisées plus haut (cf. tableau IV-4). Il est possible, avec beaucoup de soin, de réaliser avec cette méthode des déterminations quantitatives, la zone de phase stationnaire sera éluée et soumise à l'extraction par un mélange chloroforme/méthanol dans un micro-Kumagawa, le reste du dosage étant réalisé comme ci-dessus, les pertes étant en moyenne de 5 %.

D'une manière générale, après contrôle, il n'a jamais été retrouvé dans les milieux réactionnels, étudiés, quand la réaction a été considérée comme terminée, de stéroïde initial en quantité dosable.

B - Détermination du Cr^{VI} résiduel

Par ailleurs, la teneur en Cr^{VI} des différents milieux a été contrôlée soit par spectrophotométrie (vide supra...), soit par la technique à la diphénylcarbazide de Saltzman (79).

— *Réactifs :*

1° Anhydride phtalique (Merck).

2° Diphénylcarbazide (Merck).

3° Ethanol 95° purifié.

4° Phosphate monosodique :

Solution A :	Anhydride phtalique	10 g
	Ethanol	175 ml
Solution B :	Diphénylcarbazide	0,625 g
	Ethanol 95	50 ml

Les deux solutions sont mélangées au moment de l'emploi et le mélange est porté à un volume de 250 ml.

Solution C : Solution aqueuse de Phosphate monosodique, 4N.

— *Méthode :*

La prise d'essai à doser est reprise dans 10 ml d'acide sulfurique 0,5N. On ajoute successivement 1 ml de solution B et, au bout de 2 minutes, 2,5 ml de solution C.

La lecture est faite à 540 mμ, dans les trente minutes qui suivent. On a vu que cette réaction était extrêmement sensible ($E^{1\%}_{cm} = 480 \pm 5{,}5$.

Il faut bien en convenir, ce sont, en définitive, les méthodes de détermination de la teneur en Cr^{VI} résiduel du milieu réactionnel qui sont, de loin, les plus précises puisqu'elles sont réalisables directement, sans avoir recours aux multiples étapes préalables, formellement nécessaires dès que l'on veut contrôler avec certitude le taux de cétostéroïdes néoformés. Aussi, est-ce essentiellement à partir de la teneur en Cr^{VI} qu'ont été calculés les paramètres cinétiques de la réaction qui seront confrontés (cf. chap. VI) avec ceux obtenus directement à partir de l'analyse de la courbe de thermocinétique.

A ce propos, il convient de souligner, fut-ce au prix d'une répétition, que, si l'expérience microcalorimétrique est en soi, d'un abord facile dès qu'un protocole rigoureux et systématique est observé, il n'en est pas de même de la technique d'obtention de la courbe de thermocinétique à partir du thermogramme expérimental, qui non seulement exige un soin très particulier, mais dont mieux encore l'éventuelle subjectivité doit être tempérée en faisant réaliser la correction dans les zones difficiles, par au moins deux expérimentateurs agissant de façon non concertée ; il est certain que seul un dispositif automatique de correction permettra de lever cet handicap fondamental qui vient très évidemment gêner la diffusion de la méthode microcalorimétrique dans le domaine de la Cinétique.

CHAPITRE V

Les conditions d'exploitation des données expérimentales : Propagation des erreurs, précision Calcul des constantes thermodynamiques

La mise en œuvre des résultats numériques apportés par l'expérience impose formellement l'utilisation des méthodes statistiques ; aussi a-t-il paru indispensable, après avoir rappelé quelques définitions élémentaires, d'essayer d'établir les modalités de transmission des erreurs depuis le fait expérimental initial jusqu'au résultat exploitable.

— Toute série de mesures peut être caractérisée par le nombre n des essais réalisés, la moyenne arithmétique m et un des paramètres de dispersion suivant : la variance σ^2, l'écart-type σ, ou l'erreur-type sur la moyenne $\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$;

— En supposant qu'il soit possible de réaliser un très grand nombre d'essais et que ces essais soient distribués selon la loi normale (Gauss), et enfin que μ et Σ représentent la moyenne arithmétique et l'écart étalon, on peut admettre que m et σ sont les meilleures estimations conjointes de μ et Σ.

— La valeur moyenne vraie, μ, se trouve nécessairement (Lison [82], Stoeckel [83] dans les limites : $m \pm t.\sigma_m$. (1), t étant un paramètre donné par les tables de Fisher dépendant d'une part du degré de liberté ν ($\nu = n-1$), et d'autre part du risque d'erreur P choisi : $P = 0{,}1$, ou $P = 0{,}05$, ou $P = 0{,}01$; la valeur $P = 0{,}05$ étant la plus utilisée et correspondant à une confiance de 95 %. Il convient de rappeler que pour

d'autres auteurs (LAMOTTE [84]), l'intervalle de confiance de la moyenne est donné par :

$$m \pm t.\ \sigma.(n - 1)^{-1/2} \qquad (2)$$

— L'erreur relative (STOECKEL) sur la moyenne est donnée par la relation suivante :

$$\frac{100(t.\sigma_m)}{m} \qquad (3)$$

— Il est possible de comparer deux séries de valeurs, soit en utilisant le test de Student, soit en utilisant la méthode d'analyse des variances ; à remarquer que cette dernière méthode permet la comparaison simultanée de plusieurs séries d'expérience ; on retrouvera dans les traités classiques, les techniques d'utilisation de ces deux tests.

A - DÉTERMINATION DES PARAMÈTRES D'UNE RÉACTION A PARTIR DE LA COURBE DE THERMOCINÉTIQUE

Il faut bien en convenir, le chemin est long qui mène de l'expérience microcalorimétrique initiale à la détermination des paramètres cinétiques de la réaction étudiée, l'étape la plus difficile en étant l'établissement de la courbe thermocinétique : $W = f(t)$.

Le procédé graphique de double correction du thermogramme initial impose non seulement la connaissance aussi exacte que possible des constantes de temps de rang 1 et 2 du dispositif calorimétrique dans les conditions expérimentales choisies, mais encore, le tracé de tangentes en de très nombreux points d'une part du thermogramme initial et d'autre part ensuite, de la courbe obtenue par la première correction.

S'il a été possible (chap. IV) d'évaluer l'erreur sur la détermination des constantes de temps, si la sensibilité du calorimètre peut être connue avec une précision de l'ordre de 2 %, il faut bien admettre que la lecture des ordonnées du thermogramme, qui, d'après E. CALVET, pourrait se faire au 1/10 de mm près, ne donne pour des expérimentateurs moins habiles qu'une précision du 1/4 de mm.

Devant la difficulté de maîtriser toutes les causes d'erreur, et d'apprécier sainement leur influence propre sur les résultats ultérieurs, il a semblé que la multiplication des expériences microcalorimétriques pourrait permettre l'obtention d'une courbe thermocinétique moyenne, dont chaque point utilisés serait connu de façon satisfaisante, à la condition que, en même temps que son ordonnée, soit établie l'erreur-type sur la valeur de celle-ci, ce qui est un moyen certain d'apprécier la précision d'une mesure.

En tout état de cause, c'est à partir d'un nombre minimum de cinq thermogrammes, représentatifs chacun d'une même expérience réalisée dans des conditions les plus identiques possibles au point de vue de la concentration des réactifs, mais en utilisant chaque fois une cellule différente dans le même calorimètre, c'est-à-dire en occupant successivement chacune des quatre cellules d'un même ensemble calorimétrique, la cinquième expérience étant réalisée dans une des cellules choisie au hasard, que les ordonnées de la courbe cinétique moyenne ont été obtenues.

Dans le tableau V-1, sont rapportés deux exemples de détermination de courbe thermocinétique ; on constate que la puissance thermique est connue avec une précision variable suivant d'une part la nature de la réaction étudiée, et d'autre part, pour une même réaction suivant le moment où la lecture est faite.

TABLEAU V-1

Valeur moyenne de la puissance thermique $10^6.W$

Réaction A : 3 α OH 5 α androstane/CrO_3 - (6/4 micromoles - 20° C)

Réaction B : 3 β OH 5 α androstane/CrO_3 - (12/6 micromoles - 20° C)

t	A			B		
	$10^6.W$	σ_m	E_r	$10^6.W$	σ_m	E_r
1.080	41,1	0,894	6,04 %	66,3	1,364	5,7 %
1.200	37,4	0,579	4,30 %	66,2	1,202	5,3 %
1.320	34,2	0,876	7,12 %	50,4	1,160	5,5 %
1.440	31,3	0,640	5,65 %	55,5	1,043	5,2 %
1.560	28,8	0,625	6,03 %	52,0	0,924	4,9 %
1.680	26,6	0,608	6,35 %	49,2	0,697	4,1 %
1.800	24,7	0,576	6,48 %	46,7	0,625	3,7 %
1.920	23,0	0,572	6,91 %	44,4	0,652	4,0 %
2.040	21,4	0,557	7,23 %	42,1	0,703	4,6 %
2.160	20,0	0,658	9,14 %	40,0	0,759	5,2 %
2.280	18,6	0,704	10,52 %	38,1	0,754	5,5 %
2.400	17,5	0,718	11,41 %	36,4	0,609	4,6 %

t : seconde

$10^6.W$: $cal.s^{-1}$.

$$E_r : \frac{100t\ \sigma_m}{10^6.W}$$

t (Student) : 2,78

Devant cette incertitude sur la valeur exacte de la puissance thermique qui est, cela a été vu, l'élément de base du calcul des paramètres cinétiques, on peut, à bon droit, se demander avec quelle précision seront connues chaleur de réaction ou constante de vitesse ; ce problème, nous avons essayé de le résoudre en utilisant la loi gaussienne de transmission des erreurs. Ce procédé est d'utilisation assez courante, et LIVINGSTON (85) en particulier propose son emploi systématique dans tous les problèmes de cinétique chimique.

En effet, si p est une fonction de plusieurs variables S :

$$p = f(S_1, S_2, S_3..., S_i) \quad (4)$$

l'écart-étalon σ p est lié aux écarts-étalons σ_1, σ_2, σ_3, σ_i, de S_1, S_2, S_3..., S_i par la relation suivante :

$$\sigma_p = \left[\left(\frac{\partial p}{\partial S_1}\sigma_1\right)^2 + \left(\frac{\partial p}{\partial S_2}\sigma_2\right)^2 ... \left(\frac{\partial p}{\partial S^i}\sigma_i\right)^2 \right]^{1/2} \quad (5)$$

Or, nous recherchons essentiellement à connaître avec quelle précision peuvent être obtenues la chaleur de réaction ΔH_o et la constante de vitesse k. Nous avons vu que ΔH_o et k était respectivement obtenu à partir des relations suivantes :

$$\Delta H_o = \frac{(n-1)W_o^{1/n}}{Ua} \quad \text{ou} \quad (6)$$

$$\Delta H_o = \frac{n-1}{Ua(W_i^{1/n} - tU)} \quad (7)$$

$$K = \frac{U.W_o^{(1-1/n)}}{a^{(n-1)}(n-1)} \quad \text{ou} \quad (8)$$

$$K = \frac{U}{(n-1)\,[a(W_i^{-1/n} - tU)]^{n-1}} \quad (9)$$

On peut admettre que l'ordre n de la réaction est connu exactement, et considérer alors comme variables indépendantes : la puissance thermique W_i, l'intervalle U, le temps t, et a nombre de moles du corps par rapport auquel sont calculées chaleur de réaction et constante de vitesse.

Pour connaître l'écart-étalon respectif des valeurs ΔH_o et K, il suffit alors selon la relation (5) d'établir tout d'abord leurs dérivées partielles par rapport à W, U, t et a, et de connaître d'autre part les écarts-étalons ou les erreurs moyennes sur ces mêmes variables W, U, t et a.

C'est ainsi que tout calcul fait on obtient les relations suivantes :

— 1 — pour la chaleur de réaction ΔH_o :

$$\frac{\partial \Delta H_o}{\partial W} = \Delta H_o^2 \left(\frac{1}{n} a U W^{-(1+1/n)}\right) \quad (10)$$

$$\frac{\partial \Delta H_o}{\partial U} = \Delta H_o^2 (2 a t U - a W^{-1/n}) \quad (11)$$

$$\frac{\partial \Delta H_o}{\partial t} = \Delta H_o^2 a U^2 \quad (12)$$

$$\frac{\partial \Delta H_o}{\partial a} = \Delta H_o^2 (tU - W^{-1/n})U \quad (13)$$

— 2 — pour la constante de vitesse K :

$$\frac{\partial K}{\partial W} = K^2 \frac{1}{n} \cdot \frac{aW^{-\frac{n+1}{n}}}{U} \quad (14)$$

$$\frac{\partial K}{\partial U} = K^2 \frac{at}{U} \quad (15)$$

$$\frac{\partial K}{\partial t} = K^2 a \quad (16)$$

$$\frac{\partial K}{\partial a} = K^2 \left(\frac{tU - W^{-1/n}}{U}\right) \quad (17)$$

Il est alors possible, connaissant les écarts-étalons σ_W, σ_U, σ_t, σ_a, correspondant à W, U, t, a, d'établir les relations générales suivantes donnant les écarts-étalons respectifs sur les valeurs moyennes de ΔH_o et de K :

$$\sigma \Delta H_o = \Delta H_o^2 \left[\left(\frac{1}{n} aUW^{-(1+1/n)}\right)^2 \sigma_W^2 + (2atU - aW^{-1/2})^2 \right.$$
$$\left. \sigma_U^2 + (aU^2)^2 \sigma_t^2 + [(tU - W^{1/2})U]^2 \sigma_a^2 \right]^{1/2} \quad (18)$$

$$\sigma_k = K^2 \left[\left(\frac{1}{n} a \frac{W^{-(1+1/n)}}{U}\right)^2 \sigma_w^2 + \left(\frac{at}{U}\right)^2 \sigma_U^2 \right.$$
$$\left. + (a \sigma_t)^2 + \left(\frac{tU - W^{1/n}}{U}\right)^2 \sigma_a^2 \right]^{1/2} \quad (19)$$

TABLEAU V-2

Chaleur de réaction ΔH_O

Contribution des erreurs partielles

t	ΔH_O	$10^{16}.E_W$	$10^{16}.E_u$	$10^{16}.E_t$	$10^{16}.E_a$
1.200	30.102	2.280,8	2,92	202,2	0,99
1.320	30,120	6.828,3	0,46	—	1,0
1.440	30.054	4.754,2	0,10	—	0,97
1.560	30.041	5.821,5	1,82	—	0,99
1.680	30.038	6.990,2	5,71	—	0,99
1.800	30.112	7.835,7	11,90	—	1,06
1.920	30.203	9.571,6	20,43	—	1,07
2.040	30.158	11.269,6	30,69	—	0,97
2.160	30.193	19.266,5	43,42	—	1,07
2.280	29.993	27.347,2	56,70	—	0,73
2.400	30.070	34.246,8	73,90	—	1,15

t : seconde. ΔH_O : cal.mole^{-1}

$$E_W = \left(\frac{aU}{n}.W^{-\left(\frac{n+1}{n}\right)}\sigma_W\right)^2 \qquad E_a = \left[\left(tU - W^{-\frac{1}{n}}\right) U.\sigma_a\right]^2$$

$$E_U = \left[\left(2atU - aW^{-\frac{1}{n}}\right)\sigma_U\right]^2 \qquad E_t = (aU^2\sigma_t)^2$$

TABLEAU V-3

Constante de vitesse K Stérol

Contribution des erreurs partielles

t	K	$10^6.E_W$	$10^6.E_u$	$10^6.E_t$	$10^6.E_a$
1.200	1,782	145,8	6,85	12,96	0,063
1.320	1,787	436,5	8,29	—	0,063
1.440	1,783	303,9	9,86	—	0,063
1.560	1,782	372,15	11,58	—	0,063
1.680	1,782	446,86	13,43	—	0,063
1.800	1,786	500,91	15,42	—	0,063
1.920	1,791	611,88	17,54	—	0,063
2.040	1,789	720,43	19,81	—	0,063
2.160	1,791	1.231,65	22,20	—	0,063
2.280	1,777	1.748,22	24,74	—	0,064
2.400	1,782	2.189,3	27,41	—	0,063

t : seconde K : mole^{-1}. l.s^{-1}.

$$E_W = \left(aW^{-\frac{n+1}{n}}\, n^{-1}.U^{-1}\,\sigma_W\right)^2 \qquad E_U = (a.t.U^{-1}\,\sigma_U)^2$$

$$E_t = (a\,\sigma_t)^2 \qquad E_a = \left(\frac{tU - W^{-\frac{1}{n}}}{U}\right)^2$$

Dans les tableaux V-2 et V-3, nous avons voulu montrer la contribution à l'erreur totale sur les valeurs courantes de ΔH_o et K de chacune des erreurs partielles dérivant de l'incertitude sur la valeur de la puissance thermique W, la constante U, le temps t et la concentration a en stérol. Il est immédiat de constater que c'est, dans les deux cas, l'erreur provenant de l'incertitude sur la puissance thermique W qui a l'influence la plus grande sur la précision finale. Cette erreur augmente au fur et à mesure de l'avancement de la réaction, ce qui montre bien tout l'intérêt de déterminer les paramètres cinétiques à partir de valeurs de la puissance thermique prises aussi près que possible de l'origine. D'ailleurs, d'après les relations 18 et 19, il est évident que c'est à l'origine que les erreurs sur ΔH_o et K seront minima. C'est ainsi que, considérant la réaction d'oxydation de 6 micromoles de 3 α OH 5 α androstane par 4 micromoles de CrO_3 (20° C) (cf. chap. II), il est possible, lorsque ΔH_o et K sont calculés à partir de la valeur moyenne de W_o, et de la constante U d'obtenir les résultats suivants :

		Moyenne	Erreur relative
W_o	(cal.)	$128{,}96.10^{-6}$	0,46 %
$\overline{U}$	($cal^{-1/2}.s^{-1/2}$)	$628{,}96.10^{-4}$	0,7 %
ΔH_o	($k.cal.mole^{-1}$)	30,092.	0,59 %
K	($mole^{-1}.l.s^{-1}$)	1,785.	0,61 %

ce qui, si l'on se réfère au tableau V-4, montre bien que c'est dans ces conditions que ΔH_o et K sont connus avec la précision la meilleure. Mais, comme il a été vu, il est indispensable de connaître, pour pouvoir utiliser

TABLEAU V-4

Erreurs relatives sur les valeurs courantes de ΔH_o et de K

t	σ_m ΔH_o	E_r	σ_m K	E_r
1.200	202,1	1,86 %	0,018	2,80 %
1.320	338,8	3,12 %	0,029	4,47 %
1.440	284,4	2,63 %	0,025	3,86 %
1.560	313,3	2,89 %	0,028	4,32 %
1.680	342,3	3,16 %	0,030	4,65 %
1.800	361,8	3,32 %	0,032	4,92 %
1.920	399,0	3,64 %	0,036	5,58 %
2.040	431,8	3,98 %	0,039	6,03 %
2.160	562,6	5,18 %	0,051	7,90 %
2.280	670,9	6,23 %	0,059	9,22 %
2.400	747,8	6,91 %	0,067	10,42 %

les équations 18 et 19, les erreurs moyennes sur la puissance thermique W, la constante U, le temps t et la concentration a. L'erreur sur les valeurs de W est calculée d'après les valeurs expérimentales de la puissance thermique (cf. tableau V-1). L'erreur sur U est établie en utilisant les relations dérivant de la loi sur la transmission des erreurs ; c'est ainsi que l'on a vu que la valeur moyenne de U (chap. II-b) est donné par la relation (19). En appelant A le terme entre parenthèse, on peut écrire que les contributions respectives des erreurs sur la puissance thermique W et sur le temps t sont données par les relations suivantes :

$$\sigma_W U = \left(\frac{1}{n.286\Delta t}\right)^2 [(11\sigma_{W_{12}})^2 \, W_{12}^{-2\,(1+1/n)} \ldots (11\sigma_{W_1})^2 \, W_1^{-2\,(1+1/n)}]^{1/2} \qquad (20)$$

$$\sigma_t U = \frac{A.\sigma\Delta t}{n.286\Delta t^2} \qquad (21)$$

L'erreur totale sur U est en définitive donnée par

$$\sigma U = (\sigma_W U^2 + \sigma_t U^2)^{1/2} \qquad (22)$$

C'est ainsi que, tout calcul fait, on obtient dans le cas étudié (oxydation du 3OH 5 androstane), une valeur moyenne de $628{,}9.10^{-4}.cal^{-1/2}.s^{-1/2}$, avec une erreur-type de 2,287 et une erreur relative de 0,7 %.

L'erreur sur le temps est au maximum de l'ordre de 6s. ; en effet, l'enregistrement de tous les thermogrammes a été réalisé avec une vitesse de déroulement du papier de 300 mm/h (12s. = 1 mm). En outre, à plusieurs reprises, la vitesse de déroulement a été vérifiée avec un chronomètre et trouvée conforme aux spécifications du constructeur.

Compte tenu de la précision de la pesée (balance de Mettler au 1/10 mg), et des différentes manipulations indispensables à la préparation des solutions, l'erreur relative sur le nombre de moles a été estimée être de l'ordre de 0,03 %.

En tout état de cause, il convient de remarquer (cf. tableaux V-2 et V-3) que l'erreur sur le nombre de mole est pratiquement négligeable par rapport aux erreurs sur la puissance thermique, la constante U, et le temps. Il apparaît nettement que c'est l'erreur provenant de l'imprécision de W qui est majoritaire ; ce qui conduit à souhaiter l'utilisation rapide d'une système automatique de correction des thermogrammes qui seul permettra de résoudre avec une précision satisfaisante, le problème difficile et harassant de l'obtention des courbes de thermocinétiques.

B - Calcul des constantes thermodynamiques

Il est d'observation quotidienne que la vitesse de réaction croît en général d'une manière prononcée avec la température.

Des diverses formules qui ont été proposées pour traduire cette relation, c'est en fait l'expression d'Arrhénius qui est adoptée très généralement :

$$k_{exp} = A_{exp}\ e^{-E_{exp}/RT} \qquad (23)$$

Cette expression permet en général de rendre compte de l'expérience d'une manière parfaite, compte tenu de la précision des données, et l'usage s'est établi de caractériser les réactions par la constante d'action A_{exp}, et leur énergie d'activation expérimentale E_{exp}, ces paramètres caractéristiques étant implicitement considérés comme indépendant de la température. Cette hypothèse n'est, en fait, qu'une approximation qui se révèle cependant nettement suffisante dans les zones de température usuellement utilisées.

L'expression (23) est souvent employée sous sa forme différentielle :

$$\frac{d\ \ln k_{exp}}{dT} = \frac{E_{exp}}{RT^2} \qquad (24)$$

et elle est à la base de la plupart des théories cinétiques actuelles.

a) *Théorie des collisions*

Elle a son origine dans l'analogie entre l'expression (24) et l'exponentielle de Boltzmann ; la constante d'action représente ici un nombre de collision, et le terme énergétique E_{exp} correspond à une énergie critique que doivent posséder les molécules pour réagir :

$$k_{exp} = Z^\circ\ e^{-E_c/RT} \qquad (25)$$

D'après cette théorie le facteur Z° est de la forme :

$$Z^\circ = \text{Constante}.T^{1/2} \qquad (26)$$

La constante qui est déterminée par certaines constantes universelles et des grandeurs moléculaires est donnée par :

$$\text{Constante} = 2{,}75.10^9.\sigma^2\left[\frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2}\right]^{1/2} \qquad (27)$$

dans laquelle M_1 et M_2 représentent les poids moléculaires de 2 réactifs et σ leur diamètre moléculaire moyen exprimé en Å.

Z° est alors exprimé en $(\text{mole/litre})^{-1}.s^{-1}$, et se situe aux environs de 3.10^{11} dans les unités indiquées.

Par ailleurs, à partir de l'expression (25), on peut écrire : $E_{exp} = \frac{1}{2} RT + E_c$, ce qui conduit en définitive à l'expression :

$$k_{exp} = A_{exp}\, e^{-\frac{E_c + RT/2}{RT}} = Z^\circ\, e^{-\frac{E_c}{RT}} \qquad (28)$$

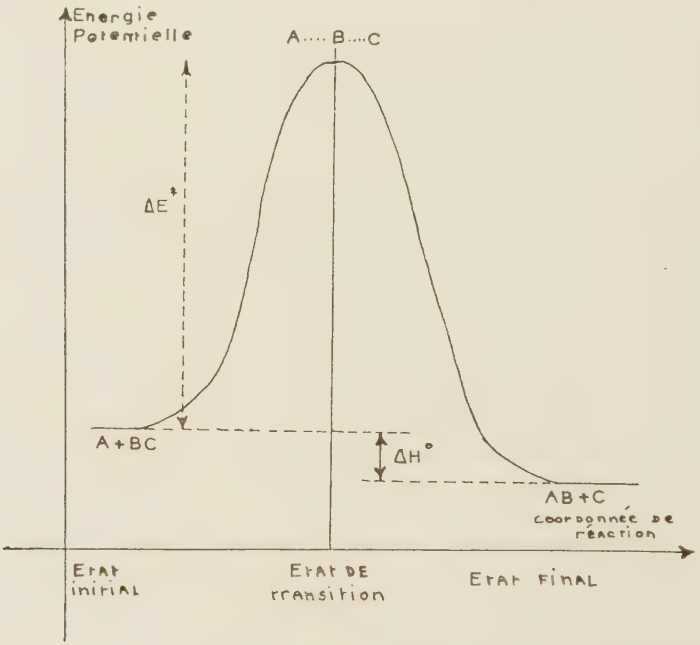
d'où l'on tire :

$$Z^\circ = A_{exp}\, e^{-1/2} \qquad (29)$$

Comme, la plupart du temps, l'erreur relative sur la constante A_{exp} est de l'ordre $e^{-1/2}$, on peut en pratique confondre A_{exp} avec Z°, mais, comme il est possible de calculer théoriquement le nombre de collisions Z°, les écarts par rapport à cette valeur théorique sont exprimés par le coefficient stérique $P = A_{exp} = Z^\circ_{exp} = P\, Z^\circ_{calc}$ (30).

b) *Théorie du complexe activé* (EYRING)

Il est évident qu'une théorie complète des vitesses de réaction exige une interprétation des paramètres A_{exp} et E_{exp}. D'après EYRING (86), lorsque 2 molécules activées se rencontrent, il se forme dans un état de transition un complexe activé qui se décompose ensuite pour donner les produits de la réaction (cf. fig. V-1).



C'est ainsi que dans une réaction A + BC → AB + C, le corps A se rapproche progressivement de la molécule BC ; tant que ces deux corps sont relativement éloignés, l'énergie potentielle du système est constante,

mais lorsque A est très proche de BC, l'énergie potentielle de l'ensemble (A + BC) augmente jusqu'à atteindre un maximum. Lorsque ce maximum est atteint, on attribue à l'ensemble des corps réagissants la formule A—B—C qui signifie qu'arrivé à ce stade, A peut s'unir à B pour donner AB + C ou que B peut rester attaché à C comme dans l'état initial : c'est cet état qui correspond à l'état de transition. ΔH_0 représente la chaleur de réaction, ΔE^* l'énergie d'activation : c'est en fait la différence d'énergie entre le complexe activé et (A + BC).

Dans cette théorie, par analogie entre l'équation d'Arrhénius sous sa forme différentielle (24) et l'isochore de Vant'Hoff, on postule que la vitesse de réaction est déterminée par la décomposition du complexe activé, dont la concentration est fixée par une constante d'équilibre K^*.

La constante de vitesse s'écrit alors :

$$k_{exp} = \frac{kT}{h} K^* \qquad (31)$$

ou : $$\text{Ln } k_{exp} = \text{Ln } \frac{k}{h} + \text{Ln } T + \text{Ln } K^* \qquad (32)$$

A noter que dans cette expression k représente la constante de Boltzmann et h la constante de Planck.

De cette expression générale, il est possible de tirer, en supposant que les constantes de vitesse et les quantités qui y sont liées sont exprimées en terme de concentration, et cela pour les réactions en solution :

$$E_{exp} = RT^2 \frac{d \text{ Ln } k_{exp}}{dT} = RT + RT^2 \frac{d \text{ Ln } K^*}{dT} = RT + \Delta H^* \qquad (33)$$

ou en définitive : $E_{exp} = RT + \Delta H^*$ (34)

ΔH^* étant l'enthalpie d'activation.

D'autre part, la constante de vitesse peut s'écrire :

$$k_{exp} = \frac{kT}{h} e^{-\Delta G^*/RT} = \frac{kT}{h} e^{-\Delta H^*/RT} e^{\Delta S^*/R} \qquad (35)$$

expression dans laquelle ΔG^* représente l'enthalpie libre d'activation. C'est ainsi que dans cette théorie une réaction est caractérisée par son énergie libre d'activation ΔG^*, par une enthalpie d'activation ΔH^* et par une entropie d'activation ΔS^*.

Ces deux théories : collision et complexe activé permettent d'exprimer les résultats expérimentaux en terme d'énergie électrostatique et arrivent souvent à des conclusions sensiblement identiques. C'est ainsi que, dans 40 % environ des réactions étudiées à ce jour, on retrouve des facteurs de fréquence (A) qui peuvent s'accorder avec la théorie des collisions, les autres présentant des valeurs ou trop faibles ou trop élevées,

on exprime ces déviations par l'intermédiaire d'un coefficient stérique P dans la théorie des collisions, ou parallèlement par l'entropie d'activation, dans la théorie du complexe activé : une grande valeur de P correspondant à une grande valeur positive de ΔS^* et inversement.

Pratiquement, différentes constantes thermodynamiques ont été déterminées à partir des relations ci-dessous, pour l'établissement desquelles ont été prises les valeurs suivantes des constantes universelles :

$R = 1{,}9865$ cal.degré$^{-1}$.mole^{-1}.

k (constante de Boltzmann) $= 1{,}3805.10^{-16}$erg.degré$^{-1}$.mole^{-1}.

$h = 6{,}6238.10^{-27}$erg.s^{-1}.mole^{-1}.

a) Energie d'activation :

$$E^* = 4{,}576\ (T_1T_2/T_2—T_1)\mathrm{Log}k_2/k_1 \qquad (36)$$

k_1 et k_2 étant les constantes de vitesses aux températures absolues T_1 et T_2.

b) Logarithme du facteur de fréquence :

$$\mathrm{Log}\ A = \mathrm{Log}\ K + \frac{E^*}{4{,}576T} \qquad (37)$$

c) Enthalpie d'activation :

$$\Delta H^* = E^* — RT\ \text{k.cal.mole}^{-1} \qquad (38)$$

d) Entropie d'activation :

$\Delta S^* = 4{,}576(\mathrm{Log}\ A — 13{,}79)$ cal.degré$^{-1}$.mole^{-1}. ou unité Entropie. (39)

e) Enthalpie libre d'activation :

$$\Delta G^* = \Delta H^* — T\,\Delta S^* \qquad (40)$$

les valeurs de LogA, ΔH^*, et ΔS^* étant calculées à 298° Kelvin (25°).

Il a paru indispensable de déterminer comment les erreurs sur k_1, k_2, T_1, T_2 se répercutaient sur les valeurs finales des constantes thermodynamiques ; c'est ainsi que tout fait calcul fait, σ_{k1}, σ_{k2}, σ_{T1}, σ_{T2}, étant les erreurs sur k_1, k_2, T_1, T_2, on obtient :

1° Erreur sur l'énergie d'activation :

$$\sigma_{E^*} = E^*\left[\left(\frac{\sigma_{k1}}{k_1.\mathrm{Log}k_1/k_2}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{k2}}{k_2.\mathrm{Log}k_1/k_2}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{t1}}{T_1^2(\frac{1}{T_1} — \frac{1}{T_2})}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{t2}}{T_2^2(\frac{1}{T_1} — \frac{1}{T_2})}\right)^2\right]^{1/2} \qquad (41)$$

2° Erreur sur l'enthalpie d'activation :

$$\sigma_{\Delta H^*} = [(\sigma_E^*)^2 + (R.\sigma_T)^2]^{1/2} \quad (42)$$

3° Erreur sur le logarithme du facteur de fréquence :

$$\sigma_{\log A} = \left[(\sigma_{\log k})^2 + (\frac{\sigma_E^*}{RT})^2 + (\frac{E^*\sigma_T}{RT^2})^2\right]^{1/2} \quad (43)$$

ou encore :

$$\frac{\sigma_A}{A} = \left[(\frac{\sigma_k}{k})^2 + (\frac{\sigma_E^*}{RT})^2 + (\frac{E^*\sigma_T}{RT^2})^2\right]^{1/2} \quad (44)$$

4° Erreur sur l'entropie d'activation :

$$\sigma_{\Delta S^*} = 2{,}3\ R\ \frac{\sigma_A}{A} \quad (45)$$

5° Erreur sur l'enthalpie libre d'activation :

$$\sigma_{\Delta G^*} = [\sigma_{\Delta H^*})^2 + (T.\sigma_{\Delta S^*})^2 + (\Delta S^*.\sigma_T)^2]^{1/2} \quad (46)$$

C'est ainsi que dans la réaction d'oxydation de la 3α OH 5α androstane les valeurs suivantes ont pu être retrouvées :

K (20° C)	=	1,79	±	$11{,}712.10^{-3}$	±	0,65 %
K (37° C)	=	8,10	±	$90{,}805.10^{-3}$	±	1,12 %
E*	=	16,0	±	0,316	±	1,97 %
ΔH*	=	15,4	±	0,313	±	2,03 %
logA	=	12,20	±	0,514	±	4,2 %
ΔS*	=	−7,2	±	2,34	±	32,5 %
ΔG*	=	17,4	±	0,793	±	4,5 %

Il peut paraître paradoxal qu'une incertitude relativement minime sur les valeurs exactes des constantes de vitesse se traduise par des erreurs importantes sur les différentes constantes thermodynamiques et tout particulièrement sur la valeur de l'entropie. Ce fait a déjà été signalé par K. Morse (87) qui indique qu'une erreur de 6 % sur l'énergie d'activation se traduit par une incertitude de l'ordre de 5,9 unités entropiques, sur la valeur de l'entropie.

D'autre part, la relation d'Arrhénius témoigne de la susceptibilité des valeurs des constantes de vitesse aux variations éventuelles de la température au cours de la réaction. Il est possible d'apprécier cette action en utilisant la relation suivante proposée par Morse (87) :

$$\frac{\sigma k}{k} = \frac{E^*}{RT} \cdot \frac{\sigma T}{T} \quad (47)$$

Or, il a été vu (chap. IV) que le dispositif microcalorimétrique assure une précision sur la température d'au moins 0,01° C, alors que l'appareillage thermostatique utilisé pour suivre spectrophotométriquement la réaction permet au mieux une stabilisation de la température de l'ordre de 0,1° C ; en application de la relation ci-dessus, on constate que lorsque l'enthalpie d'activation est de l'ordre de 16,0.k.cal. l'incertitude sur la valeur exacte de la température conduit à une imprécision de 0,09 % sur les constantes de vitesse lorsque la réaction est réalisée au microcalorimètre et de l'ordre de 1 % lorsque la réaction est suivie spectrophotométriquement ; si dans le premier cas cette action de la température paraît négligeable, il n'en est pas de même lorsque la réaction est suivie au spectrophotomètre.

Cette constatation nous a conduit à calculer tous les paramètres thermodynamiques à partir des valeurs obtenues par microcalorimétrie.

En définitive, s'il a paru utile d'esquisser cette étude critériologique des conditions expérimentales et du mode de transmission des erreurs, c'est qu'il nous a toujours semblé très aléatoire d'interpréter des résultats sans connaître leur degré de signification statistique et qu'il convient toujours de se pénétrer d'une certaine humilité devant les incertitudes systématiques de l'expérimentation.

CHAPITRE VI

Résultats expérimentaux

Il convient de préciser dès l'abord qu'il ne sera envisagé sous ce titre que la seule énumération des résultats expérimentaux, l'étude de leur corrélation éventuelle avec la structure et la conformation des stéroïdes devant faire l'objet du chapitre suivant.

Dans les tableaux VI-1, 2, 3, 4, 5 sont rapportées les différentes valeurs de :

— $\overline{U}$ à 20 et à 37° C.

— Constante de vitesse K_{sterol} à 20 et à 37° C.

— Chaleur de réaction ΔH_0 et énergie d'activation E*.

— Enthalpie d'activation ΔH^* et énergie libre d'activation ΔG^*.

— Logarithme du facteur de fréquence A et Entropie d'activation ΔS^*, correspondant chaque fois à l'hydroxystéroide dont le numéro d'identification est indiqué dans la colonne de chaque tableau. Pour chaque résultat est indiquée la valeur moyenne et l'erreur relative.

Si la valeur moyenne de $\overline{U}$ a été chaque fois calculée selon la méthode indiquée dans le chapitre II, il convient de préciser que les valeurs de k et de ΔH_0 ont été déterminées à partir de la valeur moyenne de la puissance thermique initiale W_0 et du $\overline{U}$ moyen.

C'est à partir de ces valeurs moyennes de la constante de vitesse à 20 et à 37° C qu'ont été déterminés les différents paramètres thermodynamiques. Dans tous les cas, l'erreur relative a été établie en utilisant les modalités de calcul proposées dans le chapitre V, c'est-à-dire en tenant compte chaque fois aussi bien de l'erreur sur chacune des 12 ordonnés W

choisies sur la courbe de thermocinétique moyenne (cf. chap. II), que des erreurs successives sur la constante U, le temps t et le nombre de moles de stérol en réaction.

Il n'a été rapporté que les chaleurs de réaction à 20° C. A ce propos, il convient de remarquer que s'il a été relativement facile de retrouver dans la littérature un certain nombre de travaux importants (cf. chap. VII) dans lesquels étaient étudiées les vitesses d'oxydation relative des groupements hydroxyliques des stérols (à une seule température et dans des milieux différents), il nous a été parfaitement impossible, en dépit de recherches bibliographiques soigneuses, de trouver des résultats pouvant venir confirmer ou infirmer les valeurs des chaleurs de réaction que nous présentons ici. En outre, ayant formé l'espoir de tirer quelque enseignement des différences des chaleurs de combustion entre corps formés et corps réagissant, des recherches dans la littérature spécialisée, et tout particulièrement dans les différentes publications de l' « International Bureau of Standard », nous ont conduit à constater que la détermination des chaleurs de combustion des stéroides envisagés dans cette étude n'avait jamais été réalisée.

C'est alors que nous avons demandé à H. Tachoire (88) d'essayer de réaliser, dans le cadre du Centre de recherche de thermochimie de Marseille, quelques mesures de chaleur de combustion des produits étudiés ici ; malheureusement, en raison de la haute thermicité de l'ordre de 2.500 k.cal/mole de ces chaleurs de combustion pour les stéroïdes en C_{19} et en C_{21}, et en raison surtout de la précision des méthodes d'alors de l'ordre de 2 %, il nous a été impossible de tirer argument des valeurs trouvées. Il convient à ce propos de signaler que la mise en œuvre d'une méthode plus précise de la détermination des chaleurs de combustion va permettre à H. Tachoire d'obtenir incessamment des résultats dont les différences pourront être convenablement interprétées en fonction de la nature des stéroides brûlés.

Les vitesses relatives d'oxydation de certain sterol suivant la conformation de l'hydroxyle ont été étudiées par Grimmer (17) d'une part, et par Schreiber et Eschenmoser (29) d'autre part. Si, dans la publication de Grimmer, on retrouve un certain nombre de résultats se rapportant à des stéroïdes analogues à ceux étudiés dans ce travail, il convient de remarquer que le but poursuivi par ce dernier auteur étant uniquement la comparaison des constantes de vitesse suivant la conformation, il n'a pas été donné d'indication précise sur les unités choisies pour exprimer les valeurs absolues des constantes de vitesse, ce qui nous interdit de les comparer une à une avec les valeurs présentées dans ce travail.

Il convient en outre d'indiquer que les solvants utilisés sont très différents du nôtre, ce qui rend parfaitement illusoire toute comparaison des valeurs absolues des constantes de vitesse en raison de l'importance drastique du solvant sur les conditions intimes de la réaction. C'est ainsi que ROCEK (39) a pu montrer que la vitesse d'oxydation chromique de l'alcool isopropylique était 250 fois plus importante dans l'acide acétique à 85 % que dans un acide minéral aqueux et cela pour une même valeur de la fonction acidité H_0 ; de même la vitesse est 2.500 fois moins importante dans une solution aqueuse de même pH ; selon ce même auteur la vitesse d'oxydation de l'isopropanol par l'anhydride chromique en milieu sulfurique aqueux varie selon la teneur en acide, c'est ainsi que pour une concentration en acide de 0,483 M la constante de vitesse k_2 serait de 0,0023, alors que pour une concentration en acide de 10,9 M elle passe à 17.

ROCEK, associé à WESTHEIMER (46), a étudié les variations de la constante de vitesse d'oxydation chromique du 3β-28 diacétoxy-6β hydroxy-18β-12-oléanène (DHO) et du cyclohexanol (c) en milieu acétique suivant la teneur en acide acétique. Ces auteurs donnent les résultats suivants :

AcOH %	K_{DHO} $M^{-1}.minute^{-1}$	Kc $M^{-1}.minute^{-1}$
60	65	0,051
70	87	0,14
80	115	0,47
85	190	1,2
90	270	3,5
95	450	10
98	391	28

Ces résultats témoignent de l'accélération de la vitesse de réaction en fonction de la teneur en acide acétique. Des observations analogues ont été faites par S.V. ANANTAKRISHNAM (89) qui a retrouvé les variations suivantes de la constante de vitesse ($10^4.k_2$) au cours de l'oxydation chromique de certains alcools dans des milieux aqueux de teneur différente en acide acétique :

AcOH	Isopropyl	Sec-butyl	α-phényl-éthyl	Benzhydrol
30 %	0,098	0,172	—	—
40 %	0,198	0,345	—	—
50 %	0,390	0,715	2,42	6,03
60 %	0,835	1,445	4,61	8,64
70 %	1,90	3,47	10,1	18,2
80 %	—	—	23,2	50,1

Pour notre part, nous avons dans deux cas étudié la variation de la constante de vitesse en fonction de la teneur en acide acétique du milieu réactionnel et cela à 20° C, les corps oxydés étant le 3 α OH - 5 α androstane-17 one (N° 3) et le 3β-hydroxy-5β androstane-17 one (N° 8). Les constantes de vitesse obtenues ($mole^{-1}.l.s^{-1}$) ont été les suivantes :

AcOH	k_8	k_3	k_3/k_8
100 %	4,76	5,82	1,2
95 %	1,15	1,95	1,7
90 %	0,35	0,70	2,0
80 %	0,04	0,10	2,5
75 %	0,01	0,04	4
70 %	0,003	0,01	3,3

On constate que lorsque la teneur en acide acétique passe de 100 à 70 %, la vitesse de réaction diminue de 1.586 fois dans le cas du premier corps et de 582 fois dans le cas du deuxième corps.

En outre, on peut remarquer que le rapport des constantes de vitesse tend à augmenter au fur et à mesure que la teneur en acide acétique diminue.

Des faits analogues sont d'ailleurs rapportés par GRIMMER (17) qui, étudiant les rapports des constantes de vitesse entre les isomères axiaux et équatoriaux du 6 hydroxycholestane trouve un rapport égal à 120 lorsque la réaction d'oxydation chromique est effectuée dans un milieu contenant 67 % d'acide acétique et égal à 13 lorsque la teneur est de 97 %.

Il a paru bon de rapporter tous ces faits, pour montrer la difficulté de comparer les valeurs absolues des constantes de vitesse des réactions d'oxydation lorsque les solvants utilisés sont différents.

Un des objectifs de ce travail était de vérifier la possibilité de détermination directe des paramètres cinétiques d'une réaction à partir de la courbe de thermocinétique. Aussi, chaque fois, parallèlement à la détermination microcalorimétrique, le cours de la réaction a été suivi par contrôle spectrophotométrique de la teneur résiduelle en Cr^{VI} dans le milieu réactionnel.

Dans le tableau VI-6 sont rapportées les constantes de vitesse respectivement déterminées à partir des mesures spectrophotométriques et microcalorimétriques. Il convient de préciser qu'ici les valeurs de k_{sterol} microcalorimétriques ont été calculées à partir de $\overline{U}$ et de W_O courant, et cela pour rendre la comparaison plus licite. D'autre part, l'erreur relative déterminée dans les deux cas n'est finalement fonction que de la dispersion

TABLEAU VI-1

Constante U

	20° C		37° C	
1	628,9 ± 4,482	0,71 %	1.325,1 ± 13,441	1,01 %
2	329,6 ± 2,218	0,67 %	713,4 ± 6,174	0,86 %
3	964,0 ± 8,953	0,92 %	1.940,2 ± 13,337	0,68 %
4	564,1 ± 4,145	0,73 %	1.141,4 ± 11,028	0,96 %
5	881,9 ± 9,770	1,10 %	1.880,6 ± 16,381	0,87 %
6	1.243,9 ± 12,626	1,01 %	2.438,1 ± 28,480	1,16 %
7	694,7 ± 4,253	0,61 %	1.433,6 ± 9,947	0,69 %
8	1.080,0 ± 12,226	1,13 %	2.148,4 ± 22.592	1,05 %
9	1.247,1 ± 10,440	0,83 %	2.112,3 ± 18,877	0,89 %
10	695,5 ± 3,318	0,46 %	1.402,7 ± 12,226	0,87 %
15	1.034,0 ± 10,105	0,97 %	1.825,3 ± 15,540	0,85 %
16	1.059,9 ± 10,474	0,82 %	1.900,8 ± 18,053	0,94 %
17	1.176,1 ± 12,214	1,14 %	2.064,6 ± 18,791	0,91 %
18	850,7 ± 8,090	0,95 %	1.681,6 ± 14,999	0,89 %

$10^4 \overline{U}$: $cal^{-1/2}.s^{-1/2}$.

TABLEAU VI-2

Constante de vitesse K (stérol)

	20° C		37° C	
1	1,79 ± 0,011	0,61 %	8,10 ± 0,090	1,11 %
2	0,512 ± 0,001	0,19 %	2,44 ± 0,011	0,45 %
3	4,76 ± 0,040	0,84 %	19,8 ± 0,150	0,75 %
4	1,54 ± 0,009	0,58 %	6,86 ± 0,083	1,20 %
5	3,83 ± 0,028	0,73 %	17,8 ± 0,133	0,74 %
6	6,86 ± 0,043	0,62 %	27,1 ± 0,295	1,08 %
7	2,35 ± 0,020	0,85 %	10,2 ± 0,183	1,79 %
8	5,82 ± 0,061	1,04 %	23,3 ± 0,210	0,90 %
9	10,2 ± 0,099	0,97 %	30,0 ± 0,350	1,16 %
10	3,29 ± 0,020	0,60 %	13,6 ± 0,165	1,21 %
15	7,39 ± 0,052	0,70 %	24,0 ± 0,261	1,08 %
16	7,16 ± 0,046	0,64 %	23,4 ± 0,232	0,99 %
17	9,35 ± 0,079	0,84 %	29,4 ± 0,310	1,05 %
18	5,10 ± 0,049	0,96 %	20,40 ± 0,236	1,15 %

K : $mole^{-1}.l..s^{-1}$.

TABLEAU VI-3

Chaleur de réaction ΔH_o

Energie d'activation E*

	ΔH_o		E*	
1	30,041 ± 0,179	0,59 %	16,025 ± 0,316	1,97 %
2	31,200 ± 0,113	0,36 %	16,612 ± 0,121	0,72 %
3	34,150 ± 0,173	0,50 %	15,130 ± 0,279	1,84 %
4	32,310 ± 0,183	0,56 %	15,857 ± 0,330	2,08 %
5	32,835 ± 0,301	0,91 %	16,307 ± 0,286	1,75 %
6	29,522 ± 0,394	1,33 %	14,583 ± 0,289	2,04 %
7	32,518 ± 0,217	0,66 %	15,582 ± 0,484	3,10 %
8	33,250 ± 0,371	1,11 %	14,724 ± 0,336	2,28 %
9	43,755 ± 0,672	1,53 %	11,448 ± 0,373	3,25 %
10	45,432 ± 0,328	0,72 %	15,056 ± 0,331	2,19 %
15	47,348 ± 0,787	1,66 %	12,214 ± 0,312	2,55 %
16	42,510 ± 0,590	1,38 %	12,545 ± 0,289	2,30 %
17	45,236 ± 0,701	1,54 %	11,907 ± 0,328	2,75 %
18	47,540 ± 0,612	1,28 %	14,714 ± 0,335	2,28 %

ΔH_o, E* : k.cal.mole^{-1}.

TABLEAU VI-4

Enthalpie d'activation ΔH^*

Energie libre d'activation ΔG^*

	ΔH^*		AG*	
1	15,433 ± 0,316	2,04 %	17,599 ± 0,792	4,50 %
2	16,020 ± 0,121	0,86 %	18,103 ± 0,346	1,91 %
3	14,538 ± 0,279	1,91 %	17,032 ± 0,699	4,10 %
4	15,265 ± 0,330	2,16 %	17,690 ± 0,827	4,67 %
5	15,715 ± 0,286	1,81 %	17,145 ± 0,717	4,18 %
6	13,991 ± 0,298	2,12 %	16,824 ± 0,747	4,44 %
7	14,990 ± 0,484	3,22 %	17,442 ± 1,213	6,95 %
8	14,132 ± 0,336	2,37 %	16,924 ± 0,842	4,97 %
9	10,856 ± 0,373	3,43 %	16,634 ± 0,935	5,62 %
10	14,464 ± 0,331	2,28 %	17,256 ± 0,830	4,80 %
15	11,622 ± 0,312	2,68 %	16,860 ± 0,782	4,63 %
16	11,953 ± 0,289	2,41 %	16,968 ± 0,724	4,26 %
17	11,315 ± 0,328	2,89 %	16,684 ± 0,822	4,92 %
18	14,122 ± 0,335	2,37 %	16,997 ± 0,840	4,94 %

ΔH^*, ΔF^* : k.cal.mole^{-1}.

TABLEAU VI-5

Facteur de fréquence A — (Log. A)

Entropie d'activation — ΔS*

	Log A		ΔS*	
1	12,20 ± 0,514	4,21 %	— 7,27 ± 2,82	38,7 %
2	12,26 ± 0,196	1,59 %	— 6,99 ± 0,89	12,7 %
3	11,96 ± 0,453	3,78 %	— 8,37 ± 2,07	24,73 %
4	12,01 ± 0,535	4,45 %	— 8,14 ± 2,44	29,97 %
5	12,74 ± 0,464	3,64 %	— 4,80 ± 2,12	44,16 %
6	11,71 ± 0,483	4,12 %	— 9,51 ± 2,21	23,23 %
7	11,99 ± 0,785	6,54 %	— 8,23 ± 3,59	43,62 %
8	11,74 ± 0,545	4,64 %	— 9,37 ± 2,48	26,46 %
9	9,54 ± 0,605	6,34 %	— 19,39 ± 2,47	14,28 %
10	11,74 ± 0,537	4,57 %	— 9,37 ± 2,45	26,14 %
15	9,99 ± 0,506	5,06 %	— 17,38 ± 2,31	13,29 %
16	10,11 ± 0,469	4,63 %	— 16,83 ± 3,78	22,45 %
17	9,85 ± 0,532	5,40 %	— 18,02 ± 2,52	13,98 %
18	11,68 ± 0,544	4,65 %	— 9,65 ± 2,48	25,69 %

ΔS* : cal.degré$^{-1}$.mole^{-1}.

TABLEAU VI-6

Constante de vitesses K_{sterol} (20° C)

N°	Spectrophotométrie		Microcalorimétrie		t
1	1,635 ± 0,075	4,58 %	1,794 ± 0,120	6,68 %	1,12
2	0,580 ± 0,019	3,27 %	0,520 ± 0,024	4,61 %	1,95
3	3,800 ± 0,89	2,34 %	4,180 ± 0,215	5,14 %	1,63
4	1,40 ± 0,055	3,92 %	1,550 ± 0,070	4,15 %	1,68
5	4,25 ± 0,182	4,28 %	3,85 ± 0,120	3,11 %	1,83
6	6,45 ± 0,298	4,62 %	6,84 ± 0,380	5,55 %	1,26
7	2,15 ± 0,082	2,88 %	2,35 ± 0,095	4,04 %	1,60
8	6,50 ± 0,245	3,76 %	5,82 ± 0,140	2,40 %	2,41
9	9,15 ± 0,530	5,79 %	10,12 ± 0,355	3,50 %	1,52
10	3,50 ± 0,155	4,42 %	3,29 ± 0,085	2,58 %	1,19
15	8,05 ± 0,354	4,39 %	7,38 ± 0,315	4,26 %	1,40
16	7,70 ± 0,310	4,02 %	7,15 ± 0,070	1,04 %	1,75
17	8,05 ± 0,328	4,07 %	9,35 ± 0,445	4,75 %	2,11
18	4,60 ± 0,202	4,30 %	5,10 ± 0,210	4,11 %	1,71

k_{sterol} : mole^{-1}.l.s^{-1}. t : Student.

des résultats, sans qu'il ait été tenu compte ici de la transmission des erreurs initiales de chacun des paramètres impliqués dans l'élaboration du résultat final.

On constate immédiatement que les erreurs relatives moyennes sont à peu près du même ordre, 4,5 %, quel que soit le mode de détermination.

L'erreur relative sur les constantes de vitesse obtenues à partir de la courbe spectrophotométrique nous apparaissant relativement importante, nous avons voulu vérifier si elle était en concordance avec celles qui peuvent être déterminées à partir des données publiées dans la littérature par différents auteurs classiques. Pour ce faire, empruntant au livre de JUNGERS (Cinétique Chimique Appliquée) quelques exemples de détermination des constantes de vitesse à partir de valeurs courantes, il nous a paru intéressant de déterminer l'erreur relative sur chacune des valeurs moyennes obtenues en fonction des données des auteurs ci-dessous :

Auteurs	Réaction	Erreur relative
M. LETORT (90)	Décomposition de l'acétyldéhyde en phase homogène	2,35 %
A. SERABAL (91)	Saponification de l'acétate d'isoprophyle	2,81 %
C.N. HIMSHELWOOD (92).	Action du chlorure de benzoyle sur l'aniline en solution benzénique ...	7,72 %
H. von HALBAN (93) ...	Formation d'un bromure de base tertiaire	16,52 %

Par ailleurs, la comparaison entre les valeurs de la constante de vitesse obtenues par spectrophotométrie et microcalorimétrie a été entreprise en utilisant le test t de STUDENT ; on retrouvera dans la dernière colonne du tableau VI-6 les valeurs de t calculées à partir des moyennes et des écarts-étalons, la différence entre deux valeurs moyennes étant significative lorsque t calculé est supérieur à la valeur seuil ($t = 2,09$) correspondant à une probabilité d'erreur de 5 %, pour 20 degrés de liberté ($n_1 + n_2 - 2$).

A ce propos, il convient de rappeler que les méthodes statistiques n'offrent pas de tests d'identité. Il est possible uniquement de vérifier si la différence entre deux valeurs est significative ou non pour tel seuil de probabilité d'erreur ; dans le cas où la différence n'est pas significative,

il n'est évidemment pas possible d'affirmer formellement que les valeurs moyennes obtenues sont identiques. Cette restriction conceptuelle étant faite, on remarquera qu'il n'existe pas de différence significative entre les valeurs des constantes de vitesse déterminées pour un même stérol à partir du dosage du Cr^{VI} (spectrophotométrie) ou de la courbe thermocinétique, sauf en ce qui concerne les corps 8 et 17. On peut en définitive admettre que, d'une manière générale, l'utilisation des deux méthodes conduit à des valeurs non significativement différentes.

La validité de la méthode microcalorimétrique paraissant ainsi établie, il faut en outre souligner qu'elle permet un contrôle de la température au cours de la réaction, beaucoup plus parfait que celui possible dans la méthode spectrophotométrique. En effet, dans ce dernier cas, il a été vu que, malgré l'utilisation d'un système thermostatique, la température était connue au mieux au 1/10 de degré, ce qui, compte tenu de la valeur de l'énergie d'activation de la réaction étudiée, conduit à une incertitude sur la constante de vitesse de l'ordre de 1 %, erreur venant d'ailleurs s'ajouter à l'imprécision provenant directement de la méthode expérimentale elle-même. C'est ainsi qu'il apparaît que l'établissement des paramètres cinétiques d'une réaction pourra s'effectuer dès maintenant avec une plus grande précision à partir de la courbe de thermocinétique et bientôt avec une plus grande facilité, lorsque un système de correction automatique du thermogramme lèvera le lourd handicap de la détermination graphique de la courbe de thermocinétique.

CHAPITRE VII

Corrélation entre structures et données expérimentales Essai d'analyse conformationnelle

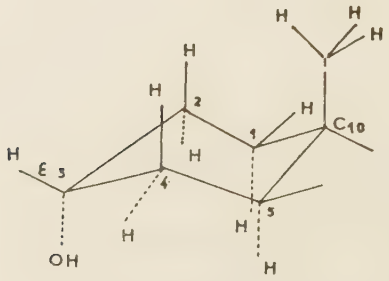
Certes, il faut bien l'avouer, le but initial de ce travail fut essentiellement d'étudier par des voies nouvelles la possibilité d'obtenir des paramètres cinétiques d'une réaction à partir de la courbe de thermocinétique, le choix même de la réaction et des réactifs n'ayant dépendu en définitive que d'une certaine familiarité avec les stéroïdes, provenant de leur fréquentation quotidienne du seul point de vue pratique de leur détermination dans les milieux biologiques.

Mais, ayant pu obtenir des constantes de vitesse avec une précision convenable, et aussi par suite d'une connaissance plus affermie de la bibliographie, il nous est apparu qu'en définitive, une des conclusions les plus intéressantes de notre travail pourrait être la confrontation des données expérimentales avec la conformation des stéroïdes étudiés.

Par conformation on entend les différentes dispositions des atomes dans une molécule pouvant être obtenues par rotation au niveau d'une ou plusieurs liaisons ; cette définition d'ELIEL (94) implique que les conformations ne se différencient que par l'arrangement spatial et non par le nombre, la nature ou le mode de liaison des atomes, et en définitive, l'analyse conformationnelle consistera à rechercher les relations éventuelles entre conformation et propriétés physiques ou chimiques dans une même molécule.

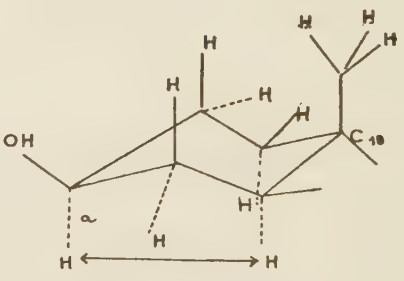
Du point de vue historique, il convient de rappeler que c'est VANT'HOFF (95) qui, le premier, en 1874, mit en avant la théorie de la structure tétraédrique du Carbone, suivi dix ans après par BAEYER (96), qui conclut à l'existence de tensions dans les cycles plans. En dépit des

travaux de SACHSE (97) en 1890 et de E. MOHR (98) en 1918, il faut attendre 1950 pour voir entre les mains de D.H.R. BARTON (99, 100) s'affirmer l'importance de l'analyse conformationnelle, les travaux initiaux



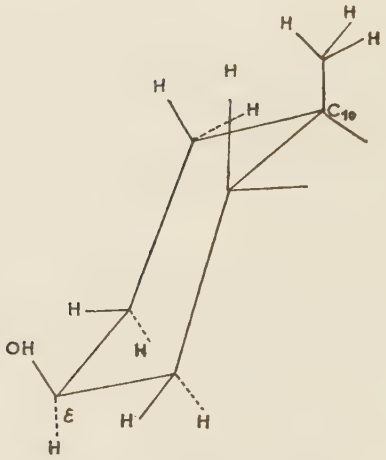
3 α OH 5 α

VII 1



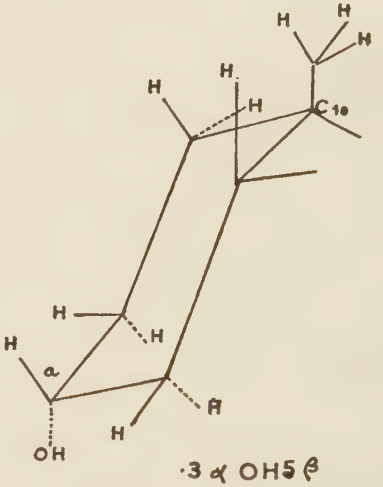
3 β OH 5 α

VII 2



3 β OH 5 β

VII 3



3 α OH 5 β

VII 4

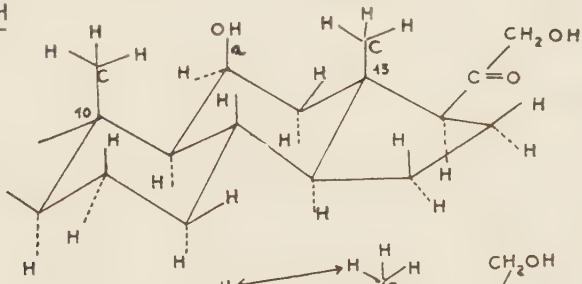
de ce dernier auteur ayant porté sur les différences de réactivité suivant la position axiale ou équatoriale des substituants dans des molécules de terpènes et de stéroïdes.

Or dans ce travail, les hydroxystéroïdes qui ont été soumis à l'oxydation, possèdent des conformations différentes ; il a été rappelé dans le chapitre IV les principes généraux auxquels répond la nomenclature

conformationnelle des stéroïdes, il est alors possible d'envisager le classement suivant des corps étudiés.

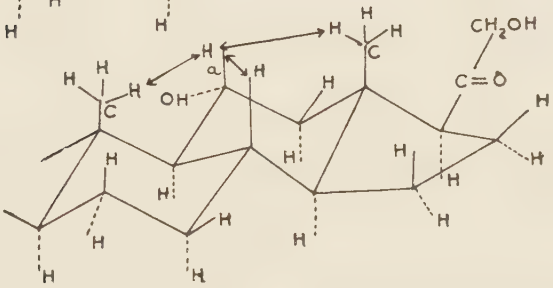
11-OH

VII 6



11 β

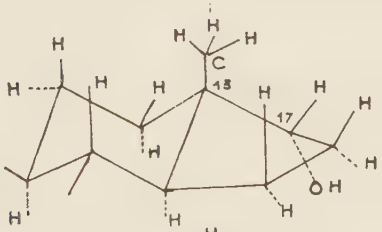
VII 5



11 α

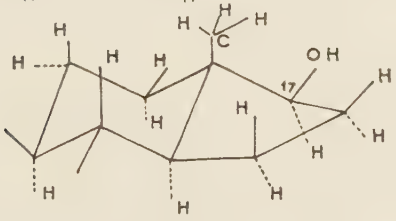
17-OH

VII 7



17 α

VII 8



17 β

Position	Conformation de l'hydroxyle	Stéroïde N°	Figure
3OH-5 α androstane ..	α axial	1, 3	I
	β équatorial	2, 4	II
3OH-5 β androstane ..	α équatorial	7	III
	β axial	8	IV
11 OH-Δ_4 androstène ou	α équatorial	10, 18	V
Δ_4 pregnene	β axial	9, 15, 16, 17	VI
17 OH-5 α androstane.	α pseudo-axial	5	VII
	β pseudo-équatorial	6	VIII

TABLEAU VII-1

Constante de vitesse K

(mole^{-1}.L.s^{-1})

(20° C)

I - 3-OH

Substituant en 17	Axial		Equatorial		$K_{ax}/K_{éq}$
	N°	K	N°	K	
CH_2 (5 α)	1	1,79	2	0,512	3,5
C=O (5 α)	3	4,76	4	1,54	3,0
C=O (5 β)	8	5,82	7	2,35	2,4

II - 11-OH

Substituant en 17	Δ_4 3C=O				
	Axial		Equatorial		$K_{ax}/K_{éq}$
	N°	K	N°	K	
C=O	9	10,2	10	3,29	3,1
=CH—C(=O)—CH_3	17	9,35	18	5,10	1,8
=CH—C(=O)—CH_2OH	16	7,16			
OH | =C—C(=O)—CH_2OH	15	7,39			

III - 17-OH

Substituant en 3	Pseudo-équatorial		Pseudo-axial		$K_{ax}/K_{éq}$
	N°	K	N°	K	
C=O	6	6,86	5	3,83	1,7

Il est à noter que, s'il n'existe aucune ambiguïté sur la conformation exacte en position 3 et 11, l'absence de certitude sur la conformation du cycle pentagonal D lui-même, qui fait d'ailleurs toujours l'objet de discussions serrées, a conduit BRUTCHER et coll. (101) à attribuer une conformation pseudo-équatoriale aux substituants 17 β et pseudo-axiale aux substituants 17 α et cela dans la mesure où les cycles C et D sont considérés comme étant en position trans l'un par rapport à l'autre ; sur la base de cette nomenclature il a été possible d'indiquer dans le tableau VII-1 les différentes valeurs de la constante de vitesse, aussi bien suivant la position de l'hydroxyle que suivant la nature des substituants en 3 ou en 17.

Or, l'étude des modalités cinétiques d'oxydation chromique de certains hydroxystéroïdes qui a fait l'objet du présent travail a permis de connaître d'une part les valeurs des constantes de vitesse, et d'autre part de calculer les fonctions thermodynamiques ΔH^*, ΔG^*, ΔS^*, relatives à chacun des corps oxydés et par ailleurs d'établir, pour les conditions expérimentales adoptées, les chaleurs de réaction respectives.

Comparer les valeurs des constantes de vitesse suivant la conformation des hydroxyles, apprécier l'influence drastique de la nature du solvant, essayer d'expliciter le rôle des substituants, tel est notre premier objectif, qui doit nous conduire, en dernière analyse à juger des facilitations apportées au déroulement de la réaction par le degré relatif d'accessibilité spatiale des groupements impliqués.

Les valeurs différentes de ΔH^*, ΔG^*, ΔS^*, suivant le stéroide étudié vont à la fois porter témoignage et donner les raisons des vitesses différenciées de réaction ; leur interprétation sera envisagée plus loin, en corrélation éventuelle avec les valeurs des chaleurs de réaction dont à vrai dire la nouveauté de connaissance et particulièrement les variations suivant la position des hydroxyles rend en l'état actuel l'interprétation difficile ; nous les donnerons à titre informatif, car pour nous elles constituent un élément essentiel dans la justification et la compréhension future des modalités d'oxydation. L'absence de tout élément de comparaison à partir de travaux analogues réalisés sur des molécules plus simples ne nous permettant pas de mieux les exploiter en l'état actuel, ne peut que nous inciter, nous ou d'autres, à entreprendre par microcalorimétrie et selon notre technique, la détermination simultanée des paramètres cinétiques et des chaleurs de réactions d'oxydation pour des corps de structure plus élémentaire.

TABLEAU VII-2

Valeurs relatives de la constante de vitesse en fonction de la position des hydroxyles

I - d'après G. GRIMMER

Oxydation chromique des monohydroxystéroïdes (20° C)
Système A : A. Acétique 67 % / A. Trichloracétique / N-Méthyl-Morpholine
Système B : A. Acétique 99,7 % / N-Méthyl-Morpholine

Position	Système A				Système B			
	5 α		5 β		5 α		5 β	
	OH-A	A/E	OH-A	A/E	OH-A	A/E	OH-A	A/E
1	4,8	1,0	—	—	12	4,2	—	—
3	1	4	0,9	3	2,4	4	2,4	—
6	3,3	11	—	—	21	11,6	—	—
7	4,6	2,8	—	—	12	20	—	—
12	—	—	4	5,7	—	—	13	10
17	—	—	1,3	—	—	—	4	—

Δ_4 — 3 C = O				
Position	A		B	
	OH-A	A/E	OH-A	A/E
6	0,9	3	1,4	4,8
7	1	5	0,2	0,4
11	24	10	5	1,4
15	2,4	2,4	4,8	2,6
16	2,0	2,0	—	—
17	1,2	2,0	3,8	1,8

TABLEAU VII-3

II - d'après J. SCHREIBER et A. ESCHENMOSER

Oxydation chromique des Monohydroxycholestane (20,0° C)
(Acide acétique 90,9 %)

Position	OH. Axial	A/E
1	4,3	1,3
2	6,6	15,3
3	1	3,0
4	11,6	17,5
6	12	18,1
7	4,1	3,7

A - *Vitesse de réaction et degré d'accessibilité de l'hydrogène juxta-hydroxylique.*

D'une manière générale, on constate que les hydroxyles en position axiale sont plus rapidement oxydés qu'en position équatoriale, comme en témoignent les valeurs du rapport $\frac{k_{axial}}{k_{équatorial}}$ qui est toujours systématiquement supérieur à 1. Ce fait est connu depuis longtemps et il semble que ce soit VAVON et ZAREMBA (102) qui, les premiers, en 1931, aient observé au cours de l'oxydation chromique de certains cyclohexanols polycycliques cette vitesse d'oxydation plus rapides des épimères axiaux. Depuis, des travaux importants de GRIMMER (17) d'une part, et de SCHREIBER et ESCHENMOSER (29) d'autre part sont venus confirmer cette observation princeps. Nous donnons dans le tableau VII-2 et VII-3 les valeurs relatives du rapport $\frac{k_{axial}}{k_{équatorial}}$ retrouvé par ces auteurs. A noter que GRIMMER retrouve un rapport égal à 2 lorsqu'on compare les vitesses d'oxydation du 17 β hydroxyle (pseudo-équatorial) et du 17 α hydroxyle (pseudo-axial), alors que nous retrouverons un rapport de 1,7, c'est-à-dire à peu près analogue.

L'analogie entre les valeurs des rapports retrouvés par GRIMMER et les nôtres se vérifient assez bien pour les hydroxyles en position 3 et 11, mais il convient de remarquer (cf. tableau VII-2) que des valeurs de ce rapport $\frac{k_{axial}}{k_{équatorial}}$ semblent varier beaucoup pour certaines positions, en fonction de la nature du solvant. C'est ainsi que pour l'hydroxyle en position 17 ce rapport est de 2,8 dans un solvant contenant 67 % d'acide acétique et de 20 lorsque le solvant est à 99,7 % d'acide acétique (cf. tableau VII-2), alors que SCHREIBER pour la même position retrouve un rapport de 3,7, mais dans de l'acide acétique à 90,9 % (cf. tableau VII-3). Il en est d'ailleurs de même en ce qui concerne l'hydroxyle en position 11 pour lequel le rapport passe de 10 à 1,4 quand la teneur en acide acétique augmente (cf. GRIMMER, tableau VII-2). Ce phénomène qui est d'ailleurs en partie corrolaire avec la diminution de la vitesse en fonction de la teneur en eau du milieu réactif, déjà signalé au chapitre VI, pose le problème de l'influence du degré de solvatation des réactifs, sur la vitesse de réaction.

D'une manière générale, les modalités actuellement admises du mécanisme d'oxydation chromique, c'est-à-dire dans une première étape, l'attaque initiale de l'atome d'hydrogène juxta-hydroxylique rend bien compte

de la vitesse d'oxydation plus rapide de l'hydroxyle axial. En effet, la formation du complexe intermédiaire paraît facilitée par une conformation équatoriale de l'hydrogène pour laquelle l'encombrement stérique est au minimum. Cela paraît se vérifier pour les positions 3 et 17 mais pour la position 11 cette explication n'est plus valable, en effet hydrogènes axiaux ou équatoriaux sont soumis à un encombrement stérique très majoritaire, dû à la proximité des radicaux méthyles en position 10 et 13, alors que la vitesse d'oxydation de l'hydroxyle axial correspondant est de loin la plus rapide. SCHREIBER et ESCHENMOSER donnent pour explication à ce phénomène inattendu le rôle prépondérant de la décompression stérique qui dans un temps second faciliterait énergétiquement la décomposition du complexe transitoire, entraînant par cela même une augmentation de la vitesse de réaction.

D'ailleurs c'est une même interprétation que l'on est conduit à donner pour expliquer la vitesse relative d'oxydation beaucoup plus importante au niveau de la position 11 qui est pourtant la plus encombrée, qu'au niveau de la position 3 pour laquelle l'atome d'hydrogène est cependant le plus accessible. En outre, on peut retrouver une preuve de l'importance de l'encombrement stérique en position 11 dans le fait qu'en cette position il est impossible de réaliser une estérification, alors qu'elle se fait commodément en position 17, et encore plus aisément en position 3. En outre, une autre preuve de l'importance de l'encombrement stérique peut être retrouvée en comparant les vitesses de réaction au cours de l'oxydation de certains hydroxyles avec le pourcentage d'hydrolyse des acétates correspondants. C'est ainsi que, en ce qui concerne les hydroxyles en position 2 et 3 du 5 α cholestane, il est connu que le 2 β hydroxyle (axial) qui interfère de façon considérable avec le groupement méthyl axial en position 10 et l'atome d'hydrogène axial en C_4 est plus gêné stériquement que l'hydroxyle 3 α qui ne subit des inter-réactions ne provenant que des deux atomes d'hydrogène avoisinants. De même, les hydroxyles 2 α et 3 β sont relativement peu encombrés, ne subissant que des inter-réactions 1-2 avec des atomes d'hydrogène voisins. Or l'expérience montre que les vitesses relatives d'oxydation par l'anhydride chromique sont respectivement de 20,3, 1,3 et 1 pour les substituants en 2 β, 3 α, 2 α, 3 β, alors que les pourcentages d'hydrolyse des acétates correspondant aux mêmes conformations sont respectivement de 11, 34, 87 et 92 d'après les résultats de FURST et PLATTNER (103).

En outre, dans un travail récent, LANGBEIN et STEINERT (104), étudiant l'oxydation des hydroxystéroides en cétones correspondantes par la N-bromosuccinimide — réaction dans laquelle le brome libre est l'agent d'oxydation actif — ont montré d'une part que l'étape déterminante de la réaction était l'attaque de l'hydrogène juxta-hydroxylique par le brome,

et que d'autre part dans ce type de réaction c'était aussi les hydroxyles axiaux qui étaient plus rapidement oxydés que les hydroxyles équatoriaux comme l'a montré FILLER (105), ce qui témoigne bien de l'importance du degré d'accessibilité de l'atome d'hydrogène pour faciliter la réaction. Il convient cependant de signaler que, dans le cas de l'oxydation d'épimères porteurs de groupes allyliques ou benzyliques, c'est l'épimère pseudo-équatorial qui est oxydé le plus rapidement comme l'ont montré entre autres GOERING et JOSEPHSON (106), ce qui a conduit STORK (107) à suggérer que ces résultats inattendus pouvaient être liés au fait que la conjonction entre les électrons π de la double liaison allylique et les électrons de la liaison C—H, conjonction rompue au cours de l'oxydation, est à son maximum lorsque la liaison C—H est en conformation pseudo-axiale, c'est-à-dire lorsque l'hydroxyle est pseudo-équatorial.

En définitive, on doit, pour expliquer les différences entre les vitesses de réaction suivant la position et la conformation, tenir aussi bien compte du degré d'accessibilité de l'hydrogène que de l'importance des facteurs énergétiques de décompression stérique.

B - *Implications thermodynamiques de la différenciation des vitesses de réaction.*

Dans la mesure où peuvent être considérés comme identiques les états de transition de 2 alcools épimères, ce qui conduit d'ailleurs à admettre nécessairement que les différences de vitesse d'oxydation sont liées aux différences d'énergie de l'état initial, il est possible, avec SIPOS et KRUPICKA (108) de penser que l'énergie libre conformationnelle est assez bien représentée par le rapport des vitesses de réaction $\frac{k_{ax}}{k_{eq}}$ selon :

$$- \Delta G^{o} = R\ T\ Ln\ \frac{k_{ax}}{k_{eq}}$$

A partir des valeurs données dans le tableau VII-1, on est conduit à retrouver les valeurs suivantes de $- \Delta G^{o}$ en k. calories. mole^{-1}.

Position	Epimères	ΔG^{o}	$\Delta H^{*}_{ax} - \Delta H^{*}_{éq}$	$\Delta S^{*}_{ax} - \Delta S^{*}_{éq}$
3	1 - 2	0,728	— 0,587	— 0,28
	3 - 4	0,639	— 0,727	— 0,23
	8 - 7	0,619	— 0,858	— 1,16
11	9 - 10	0,658	— 3,608	— 10,02
	17 - 18	0,343	— 2,807	— 8,37
		ΔG^{o}	$\Delta H^{*}_{\psi éq} - \Delta H^{*}_{\psi ax}$	$\Delta S^{*}_{\psi éq} - \Delta H^{*}_{\psi ax}$
17	6 - 5	0,308	— 1,744	— 4,71

Ces valeurs sont en conformité avec celles proposées par ELIEL (94) qui admet que l'énergie conformationnelle pour un substituant OH est comprise entre 0,25 et 1,25 k.cal.mole^{-1}, la valeur moyenne étant de 0,7 k.cal.

Une autre preuve de la plus grande stabilité thermodynamique des substituants équatoriaux peut être retrouvée dans l'existence systématique d'une enthalpie d'activation plus importante pour les épimères équatoriaux (cf. tableau ci-dessus). D'ailleurs, dès 1914, WINDAUS et ULBRIG (109) avaient montré qu'en chauffant du 3 α cholestanol équatorial pendant 8 h avec de l'amyloxyde de Sodium dans l'alcool amylique, on obtenait un mélange contenant 90 % d'épimères équatoriaux et 10 % d'épimères axiaux, ce qui démontre bien la grande stabilité de l'hydroxyle équatorial en C_3. Enfin, la plus grande vitesse de réaction pour les épimères axiaux pourra sans conteste s'expliquer d'une part par cette diminution de l'enthalpie de réaction et, d'autre part, par la plus grande valeur absolue de l'entropie d'activation qui, témoignant d'une plus grande rigidité du complexe à l'état de transition, entraîne une plus grande disponibilité d'énergie lors de la décompression stérique contemporaine de la phase finale de la réaction.

L'influence de la nature des substituants sur la vitesse d'oxydation chromique de l'alcool a été étudiée par divers auteurs ; c'est ainsi qu'utilisant l'équation de TAFT (110), ROCEK retrouve une relation linéaire entre la vitesse d'oxydation des alcools primaires R.CH_2OH et les valeurs de la constante σ correspondant au groupement R envisagé. De même, au cours de l'oxydation des paraffines — R—$CH(CH_3)_2$ —, MARES et ROCEK (44) ont montré que la vitesse d'oxydation augmentait en même temps que la longueur du groupement R. Dans un autre travail, CHATTERJI et ANTHONY (111) ont étudié l'influence des substituants sur la vitesse d'oxydation chromique de certains alcools, ils retrouvent les variations suivantes de grandeurs thermodynamiques :

	K_{25}	$\Delta S - \Delta S_o$	$\Delta G - \Delta G_o$	$\Delta E - \Delta E_o$
Isopropylalcool	0,1856	0	0	0
n-propylalcool	0,2157	— 10,65	— 0,0232	— 2,500
n-butylalcool	0,3379	— 6,87	— 0,3162	— 2,792
Isobutylalcool	0,2676	— 9,23	— 0,1642	— 3,068
Sec-butylalcool	0,2924	— 2,6	— 0,2613	— 1,076
Sec-hexylalcool	0,4957	— 6,7	— 0,5714	— 2,048

ils en concluent que la substitution d'un groupe méthyle à un groupe hydrogène réduit l'énergie d'activation, en augmentant, semble-t-il, l'attraction entre la molécule d'alcool et les réactifs, et en inférent que les hydroxyles secondaires semblent être structuralement plus rigides que les

alcools primaires en raison de l'importance relative de l'entropie d'activation.

En ce qui concerne les substances étudiées dans ce travail, il est particulièrement manifeste, pour l'hydroxyle en position 11 axiale, que la vitesse d'oxydation diminue en fonction de l'allongement de la chaîne latérale en C_{17} et, semble-t-il, du degré de polarité de cette chaîne, comme en témoignent les résultats suivants :

Substituants en C_{17}	K_{25}	$\Delta H^* - \Delta H^*_o$	$\Delta G^* - \Delta G^*_o$	$\Delta S^* - \Delta S^*_o$
C=O (9)	14,1	0	0	0
=CH—C(=O)—CH_2OH (17).	13,1	+ 0,459	+ 0,050	+ 1,37
=COH—C(=O)—CH_2OH (15)	10,8	+ 0,766	+ 0,226	+ 2,01
=CH—C(=O)—CH_2OH (16).	8,1	+ 1,097	+ 0,334	+ 2,56

Il apparaît dans ce cas que le ralentissement de la vitesse est contemporain d'une augmentation de l'énergie d'activation, alors que les modifications de l'entropie d'activation ne sont pas statistiquement significatives.

D'une manière plus générale d'ailleurs, si l'on considère, sans tenir compte de la position des hydroxyles (en 3 ou en 11), les variations dans l'enthalpie d'activation et dans l'entropie d'activation (cf. tableau VII-4), on peut voir que pour la conformation axiale une augmentation de la vitesse d'oxydation se traduit uniquement par une diminution de l'enthalpie d'activation pour l'hydroxyle en position 3, alors que pour l'hydroxyle en position 11, il y a simultanément une diminution de l'enthalpie d'activation et une augmentation en valeur absolue de l'entropie d'activation. Par contre, pour la conformation équatoriale, l'augmentation de la vitesse de réaction semble être liée, quelle que soit la position, à une seule diminution de l'enthalpie d'activation.

Il est difficile de conclure en ce qui concerne les modalités d'oxydation pour l'hydroxyle en position 17. Il apparaît en effet que l'hydroxyle 17 β, c'est-à-dire pseudo-équatorial, est plus rapidement oxydé que l'hydroxyle en position 17 α, c'est-à-dire pseudo-axial, ce qui se traduit d'ailleurs par une diminution relative de l'enthalpie d'activation s'accompagnant d'une diminution en valeur absolue de l'entropie d'activation.

Or, on sait qu'en fonction des relations entre l'entropie et l'enthalpie d'activation, il est possible de classer les réactions en quatre catégories différentes :

TABLEAU VII-4

Variations relatives de ΔH^*, ΔG^*, et ΔS^*

A - Conformation axiale

Hydroxyle	Substituant en 17	Stéroïdes N°	K_{25}	$\Delta H^* - \Delta H^*_o$	$\Delta G^* - \Delta G^*_o$	$\Delta S^* - \Delta S^*_o$
3	CH_2	1	2,9	0	0	0
	C=O	3	7,4	— 0,895	— 0,567	— 1,10
	C=O	8	8,9	— 1,301	— 0,675	— 2,10
11	C=O	8	14,1	— 4,577	— 0,965	— 12,12
	CH—CO—CH_3 .	17	13,2	— 4,118	— 0,815	— 10,75
	CH—CO—CH_2OH	16	8,2	— 3,480	— 0,621	— 9,56
	COH—CO—CH_2OH	15	10,8	— 3,811	— 0,739	— 10,11

B - Conformation équatoriale

Hydro-	Substituant en 17	Stéroïdes N°	K_{25}	$\Delta H^* - \Delta H^*_o$	$\Delta G^* - \Delta G^*_o$	$\Delta S^* - \Delta S^*_o$
3	CH_2	2	0,826	0	0	0
	C=O	4	2,43	— 0,755	— 0,413	— 1,15
	C=O	7	3,68	— 1,030	— 0,661	— 1,24
11	C=O	10	5,07	— 1,556	— 0,847	— 2,38
	CH—CO—CH_3 .	18	7,50	— 1,898	— 1,106	— 2,66

1° celles pour lesquelles les variations de vitesse de réaction sont avant tout attribuables aux modifications de l'enthalpie d'activation, l'entropie étant pratiquement courante. C'est là la situation habituelle de nombreuses réactions suivant la relation d'HAMMET (81) :

$$\log K = \log K_0 + \rho \sigma$$

2° celles pour lesquelles au contraire les variations de la vitesse sont attribuables aux variations de l'entropie, ΔH^* étant alors pratiquement constant ; c'est une circonstance bien plus rare que la précédente,

3° celles pour lesquelles les variations d'entropie et d'enthalpie sont toujours très faibles et dans le domaine des erreurs expérimentales,

4° celles où les changements de ΔH^* et ΔS^* sont importants et varient de manière parallèle. Dans ce cas il est possible de retrouver une relation linéaire entre l'enthalpie et l'entropie. On a alors :

$$\Delta H^* = \beta \quad \Delta S^* + \text{constante}$$

la pente β ayant alors les dimensions d'une température absolue est appelée température isocinétique. D'après LEFFLER (112) des modifications importantes de ΔH^* et de ΔS^* ne signifient pas nécessairement une modification du mécanisme de la réaction. D'après ce même auteur, il est formellement indispensable que d'une part les différentes valeurs de ΔH^* et d'autre part les différentes valeurs de ΔS^* soient respectivement différentes pour que l'on soit autorisé à retrouver une relation linéaire entre enthalpie et entropie d'activation. Or, il apparaît pour les réactions étudiées dans ce travail que, si les différentes valeurs de l'enthalpie d'activation sont statistiquement différentes entre elles, il n'en est pas de même pour les valeurs d'entropie d'activation qui semblent se répartir en deux groupes différents :

— les hydroxyles en position 3 de conformation axiale ou équatoriale et les hydroxyles en position 11 de conformation équatoriale, qui ont des valeurs de l'entropie d'activation non statistiquement différentes,

— les hydroxyles en position 11 de conformation axiale qui ne se différencient pas non plus entre eux,

alors qu'il existe une différence très significative pour les valeurs de l'entropie de ces deux groupes. Ce qui conduit à estimer que dans tous les cas les variations des vitesses sont attribuables aux modifications de l'enthalpie d'activation, mais que si l'on considère la variation de vitesse relative des épimères axiaux en position 11 par rapport aux autres conformations : il faut tenir compte à la fois des modifications de l'enthalpie et de l'entropie d'activation pour les interpréter.

TABLEAU VII-5

Chaleur de réaction ΔH_O

I - 3-OH

Substituant en 17	Axial		Equatorial	
	N°	ΔHo	N°	ΔHo
CH_2 (5 α)	1	30,041 ± 0,179	2	31,200 ± 0,113
C=O (5 α)	3	34,150 ± 0,173	4	32,310 ± 0,183
C=O (5 β)	8	33,250 ± 0,371	7	32,518 ± 0,217

II - 11-OH

Substituant en 17	Δ_4 3C=O			
	Axial		Equatorial	
	N°	ΔHo	N°	ΔHo
C=O	9	43,755 ± 0,672	18	45,432 ± 0,328
=CH—C(=O)—CH_3 ..	17	45,236 ± 0,701	10	47,540 ± 0,612
=CH—C(=O)—CH_2OH	16	42,510 ± 0,590		
OH | =C—C(=O)—CH_2OH.	15	47,348 ± 0,787		

III - 17-OH

Substituant en 3	Pseudo-équatorial		Pseudo-axial	
	N°	ΔHo	N°	ΔHo
C=O	6	29,522 ± 0,394	5	32,835 ± 0,301

En ce qui concerne les chaleurs de réaction (tab. VII-5), il est immédiat de constater que, si pour chaque corps étudié la valeur obtenue est statistiquement significative, l'oxydation des hydroxyles en 11 conduit à une chaleur de réaction beaucoup plus importante que pour les hydroxyles en 3 ou en 17. Il est très certainement difficile, en l'état actuel d'interpréter cette différence, cependant peut-être est-il possible d'évoquer à titre d'hypothèse l'importance des facteurs énergétiques de décompression stérique qui semblent jouer un rôle très important dans le déterminisme des modalités d'oxydation des hydroxyles en cette position. On notera enfin (Pr. Bodot) que, dans trois cas, la chaleur d'oxydation de l'hydroxyle de conformation équatoriale est supérieure à celle de l'hydroxyle de conformation axiale, bien que les deux isomères conduisent à la même cétone ; ces résultats semblent indiquer une stabilité plus grande de l'isomère axial par rapport à l'isomère équatorial, et ce contrairement aux idées établies.

En définitive, s'il a été possible de trouver des vitesses de réaction différentes suivant la position et la conformation, comme d'ailleurs l'avaient précédemment observé Grimmer et Schreiber, s'il a été possible en outre de montrer l'importance des modifications de l'enthalpie d'activation pour interpréter ces variations, il semble que la connaissance des chaleurs de combustion des différents stérols étudiés pourrait seule et à bon droit permettre une vérification convenable des chaleurs de réaction obtenues.

Conclusions générales

L'étude des possibilités de détermination des paramètres cinétiques d'une réaction chimique à partir de la courbe de thermocinétique fut l'objectif essentiel de ce travail ; c'est ainsi que nous avons été conduit à montrer la nécessité d'une connaissance aussi exacte que possible des constantes de temps relatives à l'appareillage microcalorimétrique utilisé pour obtenir de façon convenable la courbe de thermocinétique par construction graphique à partir du thermogramme expérimental. Cette courbe une fois obtenue et en étudiant les réactions en proportion stoechiométrique, il est possible, en raison des relations entre la puissance thermique et la vitesse de réaction, de déterminer successivement l'ordre de la réaction des vitesses à l'origine, la constante de vitesse de la réaction, ainsi que la chaleur de réaction. Cependant, il paraît indispensable d'utiliser une courbe de thermocinétique moyenne obtenue à partir de plusieurs thermogrammes expérimentaux pour pouvoir utiliser à bon droit les méthodes satistiques de détermination de l'erreur expérimentale. D'ailleurs, l'étude des modalités de transmission des erreurs depuis la réalisation de l'expérience microcalorimétrique jusqu'à l'obtention des paramètres cinétiques et thermodynamiques nous paraît être formellement indispensable pour avoir le droit d'utiliser des résultats obtenus aussi bien pour l'étude du mécanisme de la réaction que pour les interprétations éventuelles en corrélation avec la conformation.

C'est la réaction d'oxydation des monohydroxystéroïdes par l'anhydride chromique en milieu acétique anhydre qui a été suivie par microcalorimétrie et par spectrophotométrie. La raison de ce choix, on peut la retrouver d'une part dans le fait que la difficulté de dosage des stéroïdes non cétoniques conduit souvent en pratique à procéder à une oxydation préalable, et d'autre part dans la certitude actuelle que cette oxydation des groupements hydroxyliques est une étape importante du catabolisme des stéroïdes dans l'organisme, habituellement sous la dépendance de systèmes enzymatiques qui ont une réalité certaine. En effet, il est possible de remarquer qu'une des caractéristiques des stéroïdes biologiquement actifs, est de posséder très souvent des hydroxyles en position axiale, les épimè-

res équatoriaux ayant la plupart du temps, mais sans que cela puisse être une règle générale, une activité thermodynamique plus réduite. Or, l'expérience ayant montré la très nette facilité d'oxydation des épimères axiaux par rapport aux épimères équatoriaux, on est en droit, à titre d'hypothèse, de se demander si ce phénomène général n'a pas quelque rapport avec le comportement métabolique et pharmacodynamique différents de ces deux espèces de stéroïdes, et cela même pour des raisons énergétiques.

Sans négliger toute l'importance de cette constatation du point de vue de la biologie générale, et dans la mesure où elle serait confirmée par d'autres travaux, il apparaît possible de fixer la conformation d'un stéroïde d'après la valeur de sa vitesse d'oxydation. Cela d'ailleurs a déjà été proposé par GRIMMER, mais au terme de ce travail il semble que pour rendre plus caricaturales ces différences entre vitesse d'oxydation des épimères axiaux et équatoriaux, il soit indispensable d'utiliser des milieux réactionnels contenant une assez forte proportion d'eau. En effet il apparaît nettement que dans ce cas il est possible de mieux différencier les conformations.

La chaleur d'oxydation des hydroxyles varie très nettement suivant leur position ; c'est ainsi que l'oxydation des hydroxyles en 11 conduit à une chaleur de réaction qui est, en moyenne, une fois et demi plus forte que pour les hydroxyles en 3 et en 17. En l'état actuel, il ne nous paraît pas possible de donner une interprétation convenable de cette disparité, si ce n'est en évoquant l'importance des phénomènes de décompression stérique mis en œuvre au cours de l'oxydation d'hydroxyle en position 11, ceci n'est qu'une interprétation d'attente et nous désirons formellement la confrontation avec les résultats obtenus par d'autres méthodes calorimétriques pour aller plus avant dans cette hypothèse.

Il a été possible de montrer que les paramètres cinétiques de la réaction pouvaient être obtenus avec une bonne sécurité, à la condition de suivre les méthodes proposées dans ce travail. La confrontation de ces résultats avec ceux obtenus en utilisant une méthode classique de détermination des concentrations par spectrophotométrie, nous permet de conclure à l'intérêt de l'étude thermocinétique d'une réaction chimique.

Il est avéré qu'en l'état actuel l'obligation de transformation manuelle du thermogramme expérimental en courbe de thermocinétique est un très lourd handicap à la diffusion de ce procédé. Lorsque sera possible de façon courante l'obtention directe de la courbe de thermocinétique par correction automatique des thermogrammes, il est certain que le microcalorimètre E. CALVET trouvera là une des raisons essentielles de son utilisation systématique. En effet, un des avantages évidents lié à la nature même de cet appareil est de pouvoir réaliser des réactions à température strictement

constante, c'est-à-dire d'obtenir des valeurs thermodynamiques avec une grande certitude. Il semble, d'autre part, être acquis qu'une très grande sensibilité soit l'apanage du dispositif microcalorimétrique.

Au terme de ce travail, initialement entrepris il y a plusieurs années sous la direction et à l'instigation de notre Maître le Professeur E. CALVET, nous serions particulièrement heureux si les quelques résultats rapportés ici pouvaient inciter de plus jeunes que nous à utiliser cet appareil à la fois plein de surprises et d'avenir qu'est le Microcalorimètre CALVET dont toutes les possibilités intrinsèques sont loin d'avoir été exploitées.

VU,
Marseille, le 9 novembre 1966.
Le Doyen, P. ROUARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER.
Aix-en-Provence, le 15 novembre 1966.
Le Recteur, C. FRANCK.

Pour le Doyen,
L'Assesseur, A. GUILLEMONAT.

Bibliographie

1. - Tian (A.). — *Bull. Soc. Chim.* 1922, *31*, 535.
2. - Tian (A.). — *Bull. Soc. Chim.* 1923, *33* (4), 427.
3. - Tian (A.). — *C.R. Acad. Sc. Paris* 1924, *178*, 705.
4. - Tian (A.). — *J. Chim. Phys.* 1933, *30*, 665.
5. - Tian (A.). — *Ann. Fac. Sc. Marseille* 1933, *6*, 3.
6. - Bérenger-Calvet (M.). — *J. Chim. Phys.* 1927, *24*, 325.
7. - Calvet (E.). — Mesures thermochimiques directes en chimie organique. Vitesses et chaleurs de saponification des amides. — *Thèse*, Paris 1932.
8. - Calvet (E.) et Prat (H.). — Microcalorimétrie. Applications physico-chimiques et biologiques. — Masson, éd., Paris, 1956.
9. - Calvet (E.) et Prat (H.). — Récents progrès en microcalorimétrie. — Dunod, éd., Paris, 1958.
10. - Boivinet (P.). — Perfectionnements aux méthodes d'étalonnage et d'emploi du microcalorimètre E. Calvet. Utilisation en microbiologie. — *Thèse Sciences*, Marseille 1965.
11. - Laville (G.). — *C.R. Ac. des Sciences.* 1955, *240*, 1060.
12. - Laville (G.). — *C.R. Ac. des Sciences.* 1955, *240*, 1195.
13. - Camia (F.M.). — *Revue de l'Institut français des combustibles et de l'énergie.* 1963, *1*, 703.
14. - Camia (F.M.), Garrigues (J.-Cl.) et Roux (R.). — *J. Chim. Phys.* 1965, *62*, 1126.
15. - Calvet (E.) et Camia (F.). — *J. Chim. Phys.* 1958, *55*, 818.
16. - Jungers (J.C.) et coll. — Cinétique chimique appliquée. — 1 vol., 774 p. Publications de l'Institut français du pétrole. - Société des Éditions Technip, éd., Paris, 1958.
17. - Grimmer (G.). — *Liebigs Ann. Chem.* 1960, *636*, 42.
18. - Vauquelin. — *Ann. Chim.* 1798, *25*, 21.
19. - Vauquelin. — *Ann. Chim.* 1809, *70*, 70.
20. - Moissan (H.). — *C.R.* 1883, *97*, 96.
21. - Mauthner (J.) et Suida W. — *Monatsh.* 1894, *15*, 362.
22. - Plattner (A.), Ruzicka (L.) et Holtermann (S.). — *Helv. Chim. Acta* 1945, *28*, 1660.
23. - Fieser (L.F.) et Fieser (M.). — Steroids. 1 vol., 945 p. Reinhold Publishing Corporation. New York, 1959.

24. - Oppenauer (R.V.). — *Rec. Trav.* 1937, *56*, 137.

25. - Oppenauer (R.V.). — *Org. Synthèse.* 1941, *21*, 18.

26. - Meuly (W.C.). — U.S. Patent 2.505.646, 1950.

27. - Jones (E.M.), Marker (R.E.) et Rohrmann (E.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1940, *62*, 648.

28. - Poos (G.I.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1956, *77*, 4932.

29. - Schreiber (J.) et Eschenmoser (A.). — *Helv. Chim. Acta.* 1955, *38*, 1529.

30. - Westheimer (F.H.) et Novick (A.). — *J. Chem. Phys.* 1943, *11*, 506.

31. - Westheimer (F.H.) et Nicolaides (N.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1949, *71*, 25.

32. - Westheimer (F.H.) et Watanabe (W.). — *J. Chem. Phys.* 1949, *17*, 61.

33. - Westheimer (F.H.). — *Chem. Rev.* 1949, *45*, 419.

34. - Westheimer (F.H.), Holloway (F.) et Cohen (M.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1951, *73*, 65.

35. - Westheimer (F.H.) et Leo (A.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1952, *74*, 4387.

36. - Westheimer (F.H.) et Cohen (M.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1952, *74*, 4387.

37. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1960, *25*, 1052.

38. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1961, *26*, 2370.

39. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1958, *23*, 833.

40. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1955, *20*, 1009.

41. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1955, *20*, 1320.

42. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1957, *22*, 1509.

43. - Rocek (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1957, *22*, 1519.

44. - Rocek (J.) et Mares (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1957, *22*, 2741.

45. - Rocek (J.) et Krupicka (J.). — *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* 1958, *23*, 2068.

46. - Rocek (J.) et Westheimer (F.H.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1962, *84*, 2241.

47. - Rocek (J.). — *Tetrahedron letter.* 1962, n° 4, 135.

48. - Rocek (J.), Westheimer (F.H.), Eschenmoser (A.I.), Moldovanyi L. et Schreiber (J.). — *Helv. Chem. Acta.* 1962, *45*, 2554.

49. - Neuss (J.D.) et Rieman (W.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1934, *56*, 2238.

50. - Stewart (R.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1957, *79*, 3057.

51. - Bartlett (P.D.) et Mc Collum (J.D.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1956, *78*, 1441.

52. - Lewitt (L.S.). — *J. Org. Chem.* 1955, *20*, 1297.

53. - Kwart (H.) et Francis (P.S.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1958, *81*, 2116.

54. - Barton (D.H.R.). — *Experientia.* 1950, *6*, 316.

55. - Barton (D.H.R.). — *J. of Chem. Soc.* (London). 1953, 1027.

56. - Barton (D.H.R.). — *Quart. Rev.* 1956, *10*, 44.

57. - Hassel (O.). — *Tidsskr Kjemi Bergvesen Met.* 1943, *3*, 32.

58. - Wilson (E.B.) Jr. — *Proc. Nat. Acad. Sc. U.S.* 1957, *43*, 816.

59. - Bernstein (S.) et Lenhard (R.H.). — *J. Org. Chem.* 1953, *18*, 1146.

60. - Bernstein (S.) et Lenhard (R.H.). — *J. Org. Chem.* 1954, *19*, 1269.

61. - ZAFFARONI (A.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1950, *72*, 3828.

62. - ZAFFARONI (A.). — Recent progress in hormon research. Vol. VIII, p. 51. Academic Press Inc. Publisher N.Y. 1953.

63. - ORTON (K.J.P.) et BRADFIELD (A.E.). — *J. Chem. Soc.* 1924, 960.

64. - ORTON (K.J.P.) et BRADFIELD (A.E.). — *J. Chem. Soc.* 1927, 903.

65. - ZIMMERMANN (W.). — Hoppe Seylers. *Z. Physiol. Chem.*, 1935, *233*, 257.

66. - ZIMMERMANN (W.). — Hoppe Seylers. *Z. Physiol. Chem.* 1952, *289*, 91.

67. - ZIMMERMANN (W.). — Hoppe Seylers. *Z. Physiol. Chem.* 1954, *297*, 151.

68. - GORNALL (A.G.) et Mac DONALD (P.M.). — *J. Biol. Chem.* 1953, *202*, 279.

69. - PORTER (C.C.) et SILBER (R.H.). — *J. Biol. Chem.* 1950, *185*, 201.

70. - PORTER (C.C.) et SILBER (R.H.). — *J. Biol. Chem.* 1954, *210*, 923.

71. - SILBER (R.H.) et BUSCH iR.D.). — *J. Clin. Endocrin.* 1955, *15*, 505.

72. - MADDER (W.J.) et BUCK (R.R.). — *Anal. Chem.* 1952, *24*, 666.

73. - CHEN (C.) et TEWELL (A.E.). — *Fed. Proc.* 1951, *10*, 377.

74. - ROUX (G.). — Détermination des corticoïdes urinaires en pratique hormonologique. *Thèse Médecine*, Marseille, 1964.

75. - ZAFFARONI (A.), BURTON (R.B.) et KREUTMANN (E.H.). — *Chem. Rev.* 1955, *55*, 679.

76. - BUSH (I.E.). — *Nature.* 1950, *166*, 445.

77. - BUSH (I.E.). — *Biochem. J.* 1952, *50*, 370.

78. - BUSH (I.E.). — *Brit. Med. Bull.* 1954, *10*, 229.

79. - SALTZMANN (B.). — *Anal. Chem.* 1952, *24*, 1016.

80. - KIRK (R.E.) et BROWNE (A.W.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1928, *50*, 330.

81. - HAMMET (L.P.). — Physical organic Chemistry. 1 vol., 404 p. Mc Graw Hill Book Company, Inc., N.Y. 1940.

82. - LISON (L.). — Statistique appliquée à la biologie expérimentale. 1 vol., 346 p. Gauthier-Villars, éd. Paris, 1958.

83. - STECKEL (F.). — Cours de statistique. 1965-1966. Chaire de Chimie Générale, Faculté des Sciences, Marseille.

84. - LAMOTTE (M.). — Introduction à la biologie quantitative. 1 vol., 369 p. Masson et C^{ie}, éd., Paris, 1948.

85. - LIVINGSTON (R.). — Evaluation and interpretation of rate date - in Tecniques of Organic Chemistry, vol. VIII. Intersciences Publishers Inc. 1961.

86. - EYRING (H.). — *J. Chem. Phys.* 1935, *3*, 107.
— *Chem. Rev.*, 1935, *17*, 65.

87. - MORSE (K.). — In Techniques of Organic Chemistry. Vol. VIII, part. I, p. 500-578. A. Weisberger, édit., 1961.

88. - TACHOIRE (H.). — Contributions à l'étude des chaleurs de réaction : microcalorimétrie des réactions de combustion et des réactions photochimiques. *Thèse Doctorat ès Sciences*, Marseille, 1965.

89. - ANANTAKRISHNAN (S.V.) et VENKATASUBRAMANIAN (N.). — *Proc. Indian. Acad. Sci.* 1960, *51*, 310.

90. - LETORT (M.). — *Bull. Soc. Chim.* 1942, *9*, 1.

91. - SERBAL (A.) et HUGETZ (A.M.). — *Monatshr. Chem.* 1926, *47*, 17.

92. - Williams (E.G.) et Himshelwood (C.N.). — *J. Chem. Soc.* 1934, 1079.

93. - Von Halban (H.). — *Zeit Physik Chem.* 1909, *67*, 129.

94. - Eliel (E.L.), Allinger (N.L.), Angyal (S.J.) et Morrison (G.A.). — Conformational Analysis. 1 vol., 524 p. Interscience Publishers, 1965.

95. - Van't Hoff (J.H.). — *Bull. Soc. Chim. France.* 1875, *23*, 295.

96. - Baeyer (A.). — *Ber.* 1885, *18*, 2269.

97. - Sachse (H.). — *Ber.* 1890, *23*, 1363.

98. - Mohr (E.). — *J. Prakt. Chem.* 1918, *98*, 315.

99. - Barton (D.H.R.). — *Experientia.* 1950, *6*, 316.

100. - Barton (D.H.R.). — The stereochemistry of cyclohexane derivatives. *J. Chem. Soc.* London, 1953, 1027.

101. - Brutcher (F.V.) et Bauer (W.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1962, *84*, 2236.

102. - Vavon (G.) et Zaremba (C.). — *Bull. Soc. Chim. France.* 1931, *49*, 1853.

103. - Furst (A.) et Plattner (P.A.). — *Helv. Chim. Acta.* 1949, *32*, 275.

104. - Langbein (G.) et Steinert (B.). — *Chem. Ber.* 1962, *95*, 1873.

105. - Filler (R.). — *Chem. Rev.* 1963, *63*, 21.

106. - Goering (H.L.) et Josephson (R.R.). — *J. Am. Chem. Soc.* 1962, *84*, 2779.

107. - Storrk (G.). — In The Alkaloids. — R.H.F. Manske, éd., 1960.

108. - Sipos (F.), Krupicka (J.), Tichy (M.), Sicher (J.). — *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1962, *27*, 2079.

109. - Windaus (A.) et Ulbrig (C.). — *Ber.* 1914, *47*, 2384.

110. - Taft (R.W.) Jr. — *Ann. Rev. of Physical Chem.* 1958, 9, 287.

111. - Chatterji (A.C.) et Antony (V.). — *Z. Physik. Chem.* 1959, *210*, 103.

112. - Leffler (J.E.). — *J. Organ. Chem.* 1956, *20*, 1203.

Table des Matières

INTRODUCTION 13

CHAPITRE PREMIER. — **Le microcalorimètre E. Calvet** 15

CHAPITRE II. — **Utilisation des relations vitesse. Temps en thermocinétique** 21

a) Détermination de l'ordre global 25

b) Détermination de la constante U 26

e) Détermination de la puissance thermique initiale W. (Vitesse initiale) 28

d) Détermination de la chaleur de réaction Δ H. 29

e) Détermination de la constante de vitesse K. 32

CHAPITRE III. — **Mécanisme éventuel de l'oxydation chronique des alcools secondaires** 33

A) Théorie de Westheimer 35

B) Théorie de Rocek 38

CHAPITRE IV. — **Conditions expérimentales** 43

I. - Les réactifs 43

II. - Dispositif expérimental 54

III. - Produits de la réaction 66

CHAPITRE V. — **Les conditions d'exploitation des données expérimentales : Propagation des erreurs, précision, calcul des constantes thermodynamiques** 75

A. - Détermination des paramètres d'une réaction à partir de la courbe de thermocinétique 76

B. - Calcul des constantes thermodynamiques 83

CHAPITRE VI. — **Résultats expérimentaux** 89

CHAPITRE VII. — **Corrélation entre structures et données expérimentales. Essai d'analyse conformationnelle** 99

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 115

BIBLIOGRAPHIE 119